

**ZUM VORKOMMEN UND ZUR DIFFERENZIERUNG
VON GELB PIGMENTIERTEN BAKTERIEN
IN CEREALIEN**

Anita Götz

1978

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau Prof. Dr. B. Gedek

ZUM VORKOMMEN UND ZUR DIFFERENZIERUNG
VON GELB PIGMENTIERTEN BAKTERIEN
IN CEREALIEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Anita Götz
aus
Pirmasens
München 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent: Prof. Dr. B. Gedek
Korreferent: Prof. Dr. H. Zucker

Tag der Promotion: 28. Juli 1978



1. INTRODUCTION

2. THEORY

2.1. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.2. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.3. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.4. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.5. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.6. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.7. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.8. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.9. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.10. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

2.11. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

3. EXPERIMENTAL INVESTIGATION

3.1. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

3.2. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

3.3. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

3.4. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

3.5. The fundamental principle of the theory of the structure of the atom

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	3
2.1 Systematische Stellung gelb pigmentierter Bak- terien und deren Klassifikation	3
2.1.1 Definition des Begriffes "Gelbkeime"	3
2.1.2 Andere Bakterien mit gelbem Pigment und ihre Zugehörigkeit nach dem neuesten Stand der Systematik	3
2.1.3 Eigenschaften und Unterscheidungsmerkmale gelb pigmentierter Bakterien	8
2.1.3.1 Gramnegative Stäbchenbakterien	8
2.1.3.2 Grampositive Kokken	13
2.2 Vorkommen gelb pigmentierter Bakterien und deren Verbreitung	15
2.2.1 Allgemeine Verbreitung	15
2.2.2 Vorkommen innerhalb der Bakterienflora von Mais und Ährengetreide	16
2.2.2.1 Keimgehalt und allgemeine artenmäßige Zu- sammensetzung in Abhängigkeit von Umweltfaktoren	16
2.2.2.2 Anteil gelb pigmentierter Bakterien und ihre bisherige systematische Zuordnung	19
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	25
3.1 MATERIAL UND METHODEN	25
3.1.1 Verfahren zur Erfassung des Keimbesatzes der Cerealien	25
3.1.1.1 Anzahl und Herkunft der Proben	25
3.1.1.2 Methoden zur Bestimmung des Gesamtkeim- gehaltes und zur Erfassung gelb pigmentierter Keime unter Berücksichtigung der Anteile an Fett-, Casein- und Stärkespaltern	26
3.1.1.3 Isolierung und Konservierung der gelb pig- mentierten Keime	27

	Seite
3.1.2 Verfahren zur Charakterisierung der isolierten Keime	28
3.1.2.1 Differenzierung nach morphologischen Kriterien	28
3.1.2.2 Differenzierung nach physiologischen Kriterien	29
3.2 ERGEBNISSE UND DEREN BESPRECHUNG	36
3.2.1 Ergebnisse der Bestimmung des Keimgehaltes von Cerealien	36
3.2.1.1 Auswertung der Resultate der Keimzählung unter Berücksichtigung von Erntejahr und Herkunft der Proben	36
3.2.1.2 Qualitativer und quantitativer Nachweis von gelb pigmentierten Bakterien bei Verwendung unterschiedlicher Nährböden	39
3.2.1.3 Anteil fett-, casein und stärkeabbauender Keime an der Bakterienflora von Cerealien	43
3.2.2 Ergebnisse der Bestimmung der systematischen Zugehörigkeit der aus Cerealien isolierten, gelb pigmentierten Bakterien	47
3.2.2.1 Anzahl der untersuchten Stämme in Abhängigkeit des Nachweises in den einzelnen Proben	47
3.2.2.2 Einteilung der Stämme nach den Resultaten der Prüfung morphologischer und physiologischer Merkmale	54
3.2.2.3 Übersicht über die Herkunft der Stämme mit oxidativem und fermentativem Stoffwechsel	64
3.2.2.4 Differenzierung und systematische Zuordnung der Kokken	69
3.2.2.5 Differenzierung und systematische Zuordnung der Stäbchenbakterien	73
4. DISKUSSION	83
5. ZUSAMMENFASSUNG	91
6. LITERATURVERZEICHNIS	95
Lebenslauf	

1. EINLEITUNG

Futtermittel sind stets mehr oder weniger keimhaltig. Bei pflanzlichen Produkten stammen die Keime von der Primärflora der Feldfrüchte, tierische Produkte dagegen sind meist sekundär durch die Keime der verarbeitenden Betriebe verunreinigt (SCHMIDT, 1974 u.a.). In Mischfuttermittel bringen alle beteiligten Komponenten ihr spezifisches Keimspektrum ein, so daß die Mikroflora solcher Produkte zu einer Mischflora wird. Da insbesondere Cerealien wichtige Einzelkomponenten des Mischfutters sind, die zu hohen Prozentanteilen eingesetzt werden (z. B. zu 60 % für Geflügel oder gar zu 72 % für Schweine) und Bakterienkeimzahlen in recht beträchtlicher Höhe aufweisen können, zeichnen sie im wesentlichen für den Keimbesatz der Mischfuttermittel verantwortlich. Der mikrobiologische Zustand von Mais und Ährengetreide wird dadurch zu einem wertbestimmenden Faktor für die Mischfutterqualität (SCHMIDT, 1965).

Eine Bewertung der Qualität eines Futtermittels nach dem Keimbesatz kann allerdings nicht nur nach der Höhe des jeweiligen Keimgehaltes erfolgen, sondern sollte auch zugleich die artenmäßige Zusammensetzung berücksichtigen, weil es hiervon abhängen kann, ob die Keime und deren Stoffwechselprodukte nach der Aufnahme mit dem Futter beim Tier lediglich zu Leistungsdepressionen führen oder auch Krankheiten verursachen können (GEDEK, 1974).

Um trotz der unumgänglichen Keimbelastung der Futtermittel mit diesen ein Optimum an Leistung beim landwirtschaftlichen Nutztier zu erbringen, wurde in Erwägung gezogen, zumindest für das handelsübliche Mischfutter einheitliche Normen aufzustellen, von welchen bei der Beurteilung des mikrobiologischen Zustandes im Hinblick auf die Futtertauglichkeit eines Produktes auszugehen ist (ECKERSKORN, 1976). Das setzt jedoch eine genauere Kenntnis des natürlichen Keimbesatzes der pflanzlichen Produkte, und zwar vor allem des Getreides voraus, von dem, wie bereits erwähnt, einerseits besonders hohe Mengen bei der Mischfutterherstellung

verwendet werden, andererseits bestehen beim Getreide vor allem noch Unklarheiten hinsichtlich der Zusammensetzung der Primärflora was jene Keime anbetrifft, die immer noch unter dem Begriff "Gelbkeime" geführt werden (SPICHER, 1963).

Es wurde mir die Aufgabe gestellt, Getreidearten, wie sie hierzulande vornehmlich im Mischfutter verarbeitet werden, auf das Vorkommen gelb pigmentierter Bakterien zu untersuchen, ihren zahlenmäßigen Anteil im Vergleich zu der jeweiligen Gesamtkeimzahl zu ermitteln und zugleich zu überprüfen, ob und inwieweit auf der Grundlage der Anwendung neuer Testmethoden, eine Zuordnung dieser Keime nach dem derzeitigen Stand der Bakteriensystematik möglich ist. Dabei sollte Wert darauf gelegt werden, auch Eigenschaften zu erfassen, wie Befähigung zur Fett-, Casein- und Stärkespaltung, die Hinweise geben können auf eine eventuelle Beteiligung am Substratabbau, oder die gegebenenfalls auch zur selektiven Züchtung bestimmter Arten verwertbar sein können.

2. SCHRIFTTUM

2.1 Systematische Stellung gelb pigmentierter Bakterien und deren Klassifikation

2.1.1 Definition des Begriffes "Gelbkeime"

SPICHER (1963, 1966, 1969) beschäftigte sich in den 60er Jahren ausführlich mit dem Problem der Differenzierung und systematischen Zuordnung gelb pigmentierter Keime, die die Oberfläche von Getreidekörnern besiedeln. Als Untersuchungsmaterial standen ihm über 200 aus Roggen- und Weizenproben isolierte Stämme zur Verfügung. Nach eingehender morphologischer und physiologischer Charakterisierung verteilte er die Keime auf zwei Gruppen und umschrieb sie mit den Begriffen "typische" oder "eigentliche Gelbkeime" und "Stämme gleicher morphologischer Prägung". Somit existiert diese Bezeichnung "Gelbkeime" in der deutschen Literatur nicht etwa als Überbegriff für das gesamte Spektrum von Bakterien mit gelbem Pigment, sondern wurde von SPICHER (1966, 1969) ausschließlich für eine, von ihm genau definierte Kategorie von Keimen mit gleichen morphologischen und physiologischen Merkmalen benutzt. Er versteht darunter gramnegative, mittels Geißel bewegliche Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel, fehlender Fähigkeit zum Lactoseabbau, dem Vermögen, Nitrat zu reduzieren und Katalase zu bilden und charakteristischem Verhalten gegenüber einer Reihe von Antibiotika. Die Frage nach der systematischen Zuordnung läßt er offen.

2.1.2 Andere Bakterien mit gelbem Pigment und ihre Zugehörigkeit nach dem neuesten Stand der Systematik

Der Hinweis SPICHER's (1966), daß neben den von ihm als "Gelbkeime" bezeichneten Stäbchenbakterien eine weitere Gruppe von Stämmen "gleicher morphologischer Prägung" - d.h. ebenfalls mit gelben Kolonien

wachsende Keime - vorkamen, deren Merkmale aber sehr unterschiedlich waren, zeigt, wie vielfältig das Bild der gelb pigmentierten Bakterienflora ist. Diese Vielfalt wird auch von anderen Autoren bestätigt. HENDRIE et al. (1968) beschäftigt sich mit der Identifizierung pigmentbildender Stäbchenbakterien und erwähnt dabei eine ganze Reihe sowohl grampositiver als auch gramnegativer Keimarten, deren mehr oder weniger konstantes Merkmal das Wachstum mit gelben Kolonien ist. Als Gattungen, denen grampositive Stäbchen angehören, werden genannt: *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Brevibacterium* und *Microbacterium*. Alle diese Gattungen sind auch in der derzeit gültigen Bakteriensystematik (BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974) noch erwähnt und werden der Gruppe der coryneformen Bakterien zugeordnet (MORRISON et al., 1974).

Als Gattungen, denen gramnegative Stäbchenbakterien, mit der Eigenart gelbes Pigment zu bilden, zugeordnet werden, zählt HENDRIE et al. (1968) auf: *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Cellvibrio*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, coliforme Keime (*Erwinia*, *Escherichia aurescens*) und *Flavobacterium*. HAYES (1977) fügt dieser Liste noch die Gattung *Fleixibacter* hinzu, SPICHER (1963) erwähnt zusätzlich Vertreter von *Alcaligenes* als potentielle Bildner eines gelben Farbstoffes.

Vergleicht man diese Angaben mit den entsprechenden Gattungsbeschreibungen in der neuesten Auflage von BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1974), so haben sich einige Veränderungen bezüglich der angeführten Gattungen und den ihnen zugehörigen Spezies ergeben. *Cellvibrio*, deren Vertreter nach HENDRIE et al. (1968) als cellulolytische *Pseudomonaden* angesehen werden können, wird nicht mehr als eigene Gattung erwähnt, sondern die sobenannten Arten werden als 'Spezies incertae sedis' dem Genus *Pseudomonas* angegliedert (DOUDOROFF und PALLERONI, 1974). Bei der Beschreibung der Gattung *Aeromonas* (SCHUBERT, 1974) findet man keinerlei Hinweis auf die Fähigkeit zur Bildung von gelbem Pigment. Bei der Spezies *A. salmonicida* wird lediglich erwähnt, daß verschiedene Stämme ein bräunliches oder braunes

Pigment produzieren. In der vorhergehenden Auflage des Handbuchs (1957) wurde bei allen vier beschriebenen Arten auf die Bildung eines gelblichen, schmutzig braun-gelben oder braunen Farbstoffes unter bestimmten Bedingungen (Spezialnährböden, 3 bis 5 Tage alte Kulturen) hingewiesen (SNIESZKO, 1957). Die Angaben, die zur Bildung von gelbem Pigment bei den übrigen Gattungen gemacht werden, stimmen mit den derzeitigen Beschreibungen in BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1974) überein.

Auch bei der systematischen Zuordnung gelb pigmentierter Kokken haben sich Veränderungen gegenüber der früheren Auffassung ergeben. Nach SPICHER (1963) sind gelb wachsende Kugelbakterien in den Gattungen *Micrococcus*, *Staphylococcus* und *Sarcina* zu finden. CANALE-PAROLA (1974 a) beschreibt das Genus *Sarcina* als nicht pigmentiert. Die in der früheren Systematik innerhalb dieser Gattung zu findenden Spezies mit der Fähigkeit zur gelben Farbstoffbildung (z.B. *S. aurantiaca*, *S. flava*) sind jetzt als Mikrokokken klassifiziert (BAIRD-PARKER, 1974).

Neben diesen Genera, bei denen die Bildung von gelbem Pigment ein konstantes Gattungsmerkmal ist, wie z.B. bei *Flavobacterium*, *Xanthomonas* und den *Cytophagaceae*, oder zumindest eine ganze Reihe von Arten einer Gattung gelb pigmentiert sind, wie z.B. bei den *Erwiniae* die gesamte *Erwinia herbicola*-Gruppe, sowie viele Arten von *Pseudomonas* und den *Micrococcaceae*, findet man bei aufmerksamem Studium der Literatur Hinweise auf einzelne, gelbes Pigment bildende Spezies, die Gattungen angehören, bei denen eine Farbstoffbildung normalerweise nicht vorkommt. So wird eine Spezies der Gattung *Spirochaeta* (*S. aurantia*) als gelb pigmentiert beschrieben (CANALE-PAROLA, 1974 b), ebenso eine Spezies der Gattung *Neisseria* (*N. flavescens*, REYN, 1974). Auch Vertreter der Gattung *Lactobacillus* (ROGOSA, 1974), sowie einige Stämme von *Enterobacter cloacae* (SAKAZAKI, 1974) sollen in der Lage sein, gelben Farbstoff zu bilden. HENDRIE et al. (1968) erwähnt, daß aus der

Gattung *Agrobacterium* eine Spezies mit gelbem Pigment bekannt sei (*A. gypsophilae*). Diese war allerdings nach neueren Untersuchungen nicht von *Erwinia herbicola* zu unterscheiden und wird jetzt als Synonym dieser Spezies angesehen (LELLIOTT, 1974).

Ordnet man alle diese Gattungen nach der derzeit gültigen Bakteriensystematik (BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974), so wird deutlich, daß die Fähigkeit, gelbes Pigment zu bilden im Reich der PROCARYOTAE weit verbreitet ist. In der Division II (BAKTERIEN), die in 19 Teile, entsprechend 19 Hauptgruppen von Bakterien untergliedert ist, sind in 8 Teilen gelb pigmentierte Spezies zu finden. Tabelle 1 gibt eine Übersicht, welchen Gruppen, Familien und Gattungen die derzeit bekannten Bakterien mit diesem Merkmal zugeordnet werden.

Tabelle 1: Stellung der gelb pigmentierten Bakterien im Reich der PRO-CARYOTAE nach der derzeit gültigen Systematik (BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974)

Bakteriengruppe (Teil)	Familie	Gattung (Spezies)
Gleitende Bakterien (Teil 2)	Cytophagaceae	Cytophaga Flexibacter Herpetosiphon Flexithrix Saprospira Sporocytophaga
Spirochaeten (Teil 5)	Spirochaetaceae	Spirochaeta (S. aurantia)
Gramnegative aerobe Stäbchen und Kokken (Teil 7)	Pseudomonadaceae Genus unsicherer Zugehörigkeit	Pseudomonas Xanthomonas Alcaligenes (A. paradoxus)
Gramnegative fakulta- tiv anaerobe Stäbchen (Teil 8)	Enterobacteriaceae Vibrionaceae Genus unsicherer Zugehörigkeit	Escherichia (E. aureus E. adecarboxylata) Enterobacter (manche Stämme von E. cloacae) Erwinia (E. herbicola-Gruppe) Vibrio Aeromonas Flavobacterium
Gramnegative Kokken und kokkoide Stäbchen (Teil 10)	Neisseriaceae	Neisseria (N. flavescens)
Grampositive Kokken (Teil 14)	Micrococcaceae	Micrococcus Staphylococcus
Grampositive asporo- gene stäbchenförmige Bakterien (Teil 16)	Lactobacillaceae	Lactobacillus
Aktinomyceten und ver- wandte Organismen (Teil 17)	Coryneforme Bakterien	Arthrobacter Brevibacterium Microbacterium Cellulomonas

2.1.3 Eigenschaften und Unterscheidungsmerkmale gelb pigmentierter Bakterien

2.1.3.1 Gramnegative Stäbchenbakterien

Die Differenzierung gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien bereitet bis auf den heutigen Tag große Schwierigkeiten (GOOD-FELLOW et al., 1976; HAYES, 1977), nicht zuletzt wegen der Verwirrung, die durch die Einführung des Genus "Flavobacterium" gestiftet wurde. Dieser Begriff tauchte als Gattungsname erstmals in der 1. Auflage von BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1923) auf und war so weitläufig umschrieben, daß man im Grunde genommen jedes gelb pigmentierte Stäbchenbakterium dieser Gattung zuordnen konnte. Die systematische Einordnung rein nach morphologischen Gesichtspunkten wurde jedoch bald als unbefriedigend empfunden und die sinnvollere Differenzierung dieser Bakteriengruppe nach ihren biochemischen Merkmalen empfohlen (HENDRIE et al., 1968). Die Gattung Flavobacterium wurde von Auflage zu Auflage des Handbuches immer enger definiert, und es wurden einige dieser Stäbchenbakterien einer Reihe anderer Gattungen zugeordnet, wie der Tabelle 1 zu entnehmen ist.

Es bleiben dennoch, hinsichtlich der systematischen Stellung der gelb pigmentierten, gramnegativen Stäbchen der verschiedensten Fundorte, eine Vielzahl von Fragen offen und selbst mit modernsten Methoden wie Computer-Analysen ist es einigen Autoren nicht gelungen, sämtliche Isolate solcher Keime mit Sicherheit einer bestimmten Spezies zuzuordnen (GOODFELLOW et al., 1976; HAYES, 1977). Es wird dies einerseits auf die große Heterogenität der Merkmale dieser Mikroorganismen zurückgeführt (McMEEKIN et al., 1971; BYROM, 1971). Andererseits ist von ausschlaggebender Bedeutung auch die Tatsache, daß manche der Gattungen, denen diese Keime zugeordnet werden, willkürlich definiert und zusammengefaßt wurden, z. B. die Gattung Flavobacterium (HAYES, 1977), oder daß ihre Eigenschaften noch wenig und unvollständig untersucht worden sind. Letzteres trifft insbesondere für die Familie Cytophagaceae zu,

von deren Vertretern als einzige gemeinsame Merkmale die Beweglichkeit durch Gleiten neben der Bildung von gelben Pigmenten bekannt sind, so daß über die natürliche Verwandtschaft untereinander bestenfalls Vermutungen ausgesprochen werden können (LEADBETTER, 1974).

Die Angaben hinsichtlich gattungsspezifischer, eine klare Abgrenzung gestattender Eigenschaften sind allerdings auch bei den anderen in Frage kommenden Genera vielfach unvollständig, wie aus der Zusammenstellung nach den Beschreibungen in BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1974) hervorgeht (s. Tabelle 2). Viele Merkmale wurden entweder noch nicht untersucht, oder es sind keine diesbezüglichen Hinweise zu finden (Symbol o). Bei einer Reihe von Eigenschaften fällt das Ergebnis bei den einzelnen Spezies unterschiedlich aus (Symbol v), oder das Genus beinhaltet sowohl positiv als auch negativ reagierende Arten (Symbol +). Die Klammern in Tabelle 2 bedeuten, daß der Test selten negativ (-) bzw. positiv (+) oder variabel (v) ausfällt. Nicht zuletzt bestehen zwischen den Gattungen eine Vielzahl von Merkmalsüberschneidungen, womit sich abermals die Problematik der systematischen Zuordnung gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien zu erkennen gibt.

In Tabelle 2 sind nur diejenigen Gattungen gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien berücksichtigt, deren Zellformen von kleinen, kokkoiden bis zu langen, schlanken Zellen bzw. Filamenten (Cytophaga und Flexibacter) variieren, sonst aber keine Besonderheiten aufweisen. Die Gattungen der Familie Cytophagaceae, deren Zellmorphologie davon abweichende Merkmale zeigt, wie Hüllen (Herpetosiphon, Flexithrix), helikale Zellformen (Saprospira) oder Mikrocyten als Dauerformen (Sporocytophaga, werden nicht aufgeführt.

Bei dem Versuch, anhand der hierfür aus der Literatur zur Verfügung stehenden Angaben, ein Schema zur Differenzierung der Gattungen zu erstellen, wird deutlich, in welchem Umfang Merkmalsüberschneidungen bestehen, besonders wenn man Hinweise berücksichtigt, wie z.B. bei Flavobacterium, wo auch fakultativ anaerobe Stämme vorkommen sollen (WEEKS, 1974), oder bei Flexibacter, dem eine Spezies mit fermentati-

Tabelle 2: Merkmale der Gattungen gramnegativer Stäbchenbakterien, denen nach **BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology** (1974) gelb pigmentierte Arten zugeordnet werden

Genera	Eigenschaften	Pseudo- monas	Xantho- monas	Alcali- genes	Escheri- chia	Enterobacter	Erwinia	Vibrio	Aero- monas	Flavobac- terium	Cyto- phaga	Flexi- bacter
O ₂ -Verhalten: aerob fak. anaerob		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stoffwechsel: O/F-Test		O/-	O/-	O/-	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F
Katalase-Bildung		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cytochromoxidase-Bildung		+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Beweglichkeit		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Begeißelung:		+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
polar		+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
peritrich		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
keine Geißeln		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Nitratreduktion		o	-	o	+	+	v	o	+	o	o	o
H ₂ S-Bildung		o	v	o	-	-	v	+	o	v	o	o
Indol-Bildung		o	-	o	+	-	v	o	+	v	o	o
KCN-Resistenz		o	o	o	-	+	-	o	v	o	o	o
Lactoseabbau		o	o	o	(+)	+	(v)	o	o	v	o	(v)
Fettspaltung		o	+	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Caseinspaltung		o	v	-	o	o	-	o	+	v	o	o
Gelatineverflüssigung		v	v	-	-	+	(-)	o	+	v	o	(-)
Stärkespaltung		(+)	(+)	o	o	o	o	o	+	v	v	v
DNase-Bildung		o	o	o	o	-	v	o	+	o	o	o

O/F-Test = Oxidations/Fermentations-Test; O/- = oxidativer Stoffwechsel; O/F = oxidativer und fermentativer Stoffwechsel; O/(F) = vorwiegend oxidativer, selten fermentativer Stoffwechsel

===== Gelb pigmentierte, gramnegative Stäbchenbakterien =====

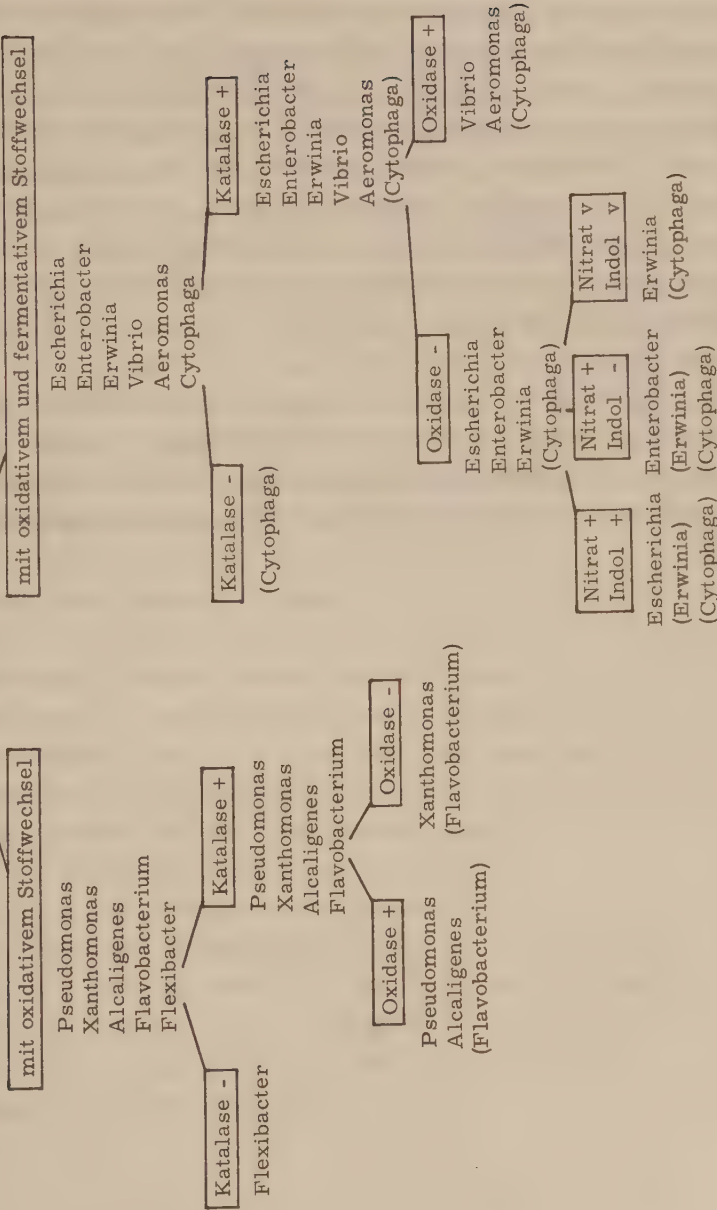


Abb. 1: Differenzierungsschema nach BERGEY 's Manual of Determinative Bacteriology (1974)

vem Stoffwechsel zugeordnet wird (LEADBETTER, 1974). Läßt man diese Angaben außer acht und nimmt für beide Gattungen einen streng oxidativen Stoffwechsel an, der von anderen Autoren für die Klassifizierung als "Flavobacterium" auch gefordert wird (COWAN, 1974), so bestehen weiterhin Unklarheiten, bedingt durch variable Merkmale, betreffend z. B. die Katalase-Bildung bei *Cytophaga* (LEADBETTER, 1974), die Oxidase-Bildung bei *Flavobacterium* (WEEKS, 1974), die Nitratreduktion, H_2S - und Indol-Bildung bei *Erwinia* (LELLIOTT, 1974), oder aber auch durch das Fehlen von Angaben zu wichtigen Unterscheidungskriterien, wie z. B. zur Oxidase-Bildung bei *Cytophaga* und *Flexibacter*.

In Abbildung 1 werden die, in Tabelle 2 zusammengefaßten Merkmale zur Aufstellung eines Differenzierungsschemas herangezogen. Wo eine sichere Zuordnung nach der Literatur nicht möglich war, ist die entsprechende Gattung in Klammern an den verschiedenen in Frage kommenden Stellen aufgeführt.

2.1.3.2 Grampositive Kokken

Die Differenzierung gelb pigmentierter, grampositiver Kokken erscheint nach den Angaben in BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1974) im Vergleich zu der Situation bei den gramnegativen Stäbchenbakterien problemlos.

Die Spezies der grampositiven Kugelbakterien werden im Teil 14 des Handbuches ("Grampositive Kokken") zusammengefaßt. In der ersten Untergruppe, den aerob und/oder fakultativ anaerob wachsenden Kokken sind zwei Familien zu finden, die Micrococcaceae und die Streptococcaceae. Die Vertreter dieser beiden Familien lassen sich nach der Befähigung zur Katalase-Bildung differenzieren. Nur die Micrococcaceae bilden Katalase, während der Test bei den Streptococcaceae negativ ausfällt (BAIRD-PARKER, 1974; DEIBEL und SEELEY, 1974). Sowohl aerobes Wachstum als auch Bildung von Katalase sind typische Merkmale der Haufenkokken der Gattungen *Micrococcus* und *Staphylococcus* der Familie Micrococcaceae, denen als einzigen Genera gelb pigmentierte Arten zugeordnet werden können (vgl. 2.1.2). Ein Schema zur Differenzierung dieser beiden Gattungen, welches nach den Angaben von BAIRD-PARKER (1974) erstellt ist, enthält die Abbildung 2. Dem Genus *Micrococcus* gehören drei Spezies an, wovon eine, *M. roseus*, schon morphologisch, aufgrund der roten Pigmentierung gegenüber den anderen zwei Arten abgegrenzt werden kann. Eine Unterscheidung zwischen *M. luteus* und *M. varians* läßt sich nach dem Glucoseabbau vornehmen.

Der Gattung *Staphylococcus* werden ebenfalls drei Spezies zugeordnet, die alle mehr oder weniger häufig als gelb pigmentierte Varianten auftreten. Ihre Differenzierung ist gleichfalls aufgrund unterschiedlicher Stoffwechselleistungen möglich. Außerdem sollen sich die Haufenkokken beider Gattungen hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber Novobiocin abweichend voneinander verhalten.

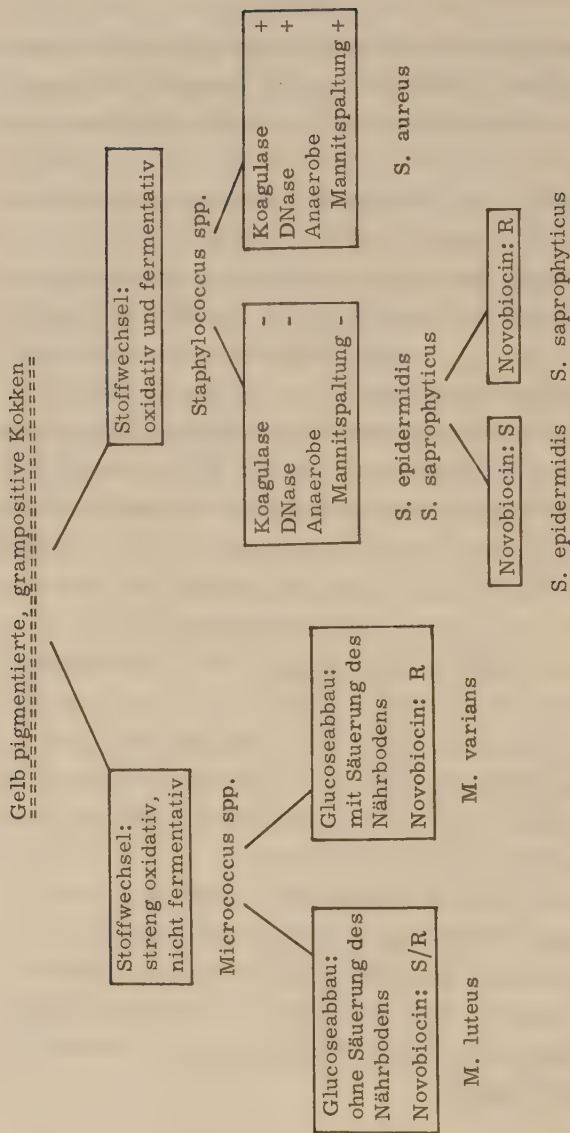


Abb. 2: Differenzierungsschema der Gattungen *Staphylococcus* und *Micrococcus* der Familie Micrococcaceae nach *BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology* (1974)

2.2 Vorkommen gelb pigmentierter Bakterien und deren Verbreitung

2.2.1 Allgemeine Verbreitung

Über das Vorkommen gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien und deren Verbreitung liegt eine kaum überschaubare Anzahl von Berichten vor. Schon sehr frühe Veröffentlichungen beschreiben Stämme, die aus Pflanzenmaterial isoliert worden waren (BEIJERINCK, 1888; WINKLER, 1899; DÜGGELI, 1904; HUSS, 1907). Die Pflanze wird auch als der Hauptlebensraum dieser Mikroorganismen angesehen (SPICHER, 1958). Dennoch kann man gelb pigmentierte, gramnegative Stäbchen als ubiquitäre Keime ansprechen, wie die zahlreichen Berichte über die verschiedensten Fundorte bestätigen:

REICHARDT (1974) untersuchte gelb pigmentierte Bakterien aus Süßwasser, HAYES (1963) arbeitete mit Kulturen marinen Ursprungs, DOREY (1959) mit einem Stamm, den er im Boden gefunden hatte, EDMONDS und COONEY (1967) isolierten Flavobakterien aus Flugzeugschmieröl.

In Lebensmitteln tierischen und pflanzlichen Ursprungs sind gelb pigmentierte Stäbchenbakterien häufig anzutreffen, wobei ihnen aufgrund ihrer proteolytischen und pektinolytischen Fähigkeiten von verschiedenen Autoren besondere Bedeutung als Verderberreger beigemessen wird (SCHMIDT-LORENZ, 1964; BEAN und EVERTON, 1969; LUND, 1971). Über das Vorkommen von Flavobakterien in Hechtfilets berichten LEE und HARRISON (1968). McMEEKIN et al. (1971) züchtete u. a. Stämme aus Fleisch, Wurst und Geflügel, ferner aus dem Wasser und von den Gerätschaften lebensmittelverarbeitender Betriebe an. GERINGER (1975) untersuchte gelbes Pigment bildende, stäbchenförmige Bakterien aus Milch, BYROM (1971) solche aus Konserven, die Kulturen von LUND (1969, 1971) stammten von Gemüse und Früchten.

Angaben über Isolierungen solcher Keime aus Untersuchungsmaterial menschlicher und tierischer Herkunft, sind ebenfalls nicht selten. DRESEL und STICKL (1928) fanden gelb wachsende, fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien in den Faeces von Personen mit Typhussymptomen.

MURASCHI et al. (1965) berichtet über ähnliche Mikroorganismen, die er aus inneren Organen von Tieren und Rachensekret von Menschen isoliert hatte. Unter den 124 Bakterienstämmen, die GOODFELLOW et al. (1976) züchtete, befanden sich auch gelb pigmentierte Vertreter aus menschlichen Sekreten und Exkreten wie Urin, Faeces, Zerebrospinalflüssigkeit, Nasen- und Rachensekret.

Die Arten gelb pigmentierter Kokken kommen ebenfalls ubiquitär verbreitet vor. Hauptsächlich sollen jedoch die Spezies der Gattung *Micrococcus* im Boden, Staub, Süßwasser, sowie auf der Haut und in den Hautdrüsen von Mensch und Tier anzutreffen sein; sie werden aber auch aus Milch und Milchprodukten und aus Tierkadavern isoliert (BAIRD-PARKER, 1974).

Als Biotop der Arten der Gattung *Staphylococcus* gelten Haut, Hautdrüsen und Schleimhäute der Warmblüter (KLOOS et al., 1976). Da von ihnen ein Vorkommen außerdem in Luft, Staub, Boden, Milchprodukten und Tierkadavern nachgewiesen worden ist (BAIRD-PARKER, 1974), ist es gerechtfertigt, auch sie als Mikroorganismen mit ubiquitärer Verbreitung anzusprechen.

2.2.2 Vorkommen innerhalb der Bakterienflora von Mais und Ährengetreide

2.2.2.1 Keimgehalt und allgemeine artenmäßige Zusammensetzung in Abhängigkeit von Umweltfaktoren

Die Bakterienflora der Cerealien ist bezüglich Keimzahl und artenmäßiger Zusammensetzung von vielen Faktoren abhängig. SPICHER (1956) faßt sie in zwei Gruppen zusammen und stellt klimatische Wachstumsbedingungen und Ernte- und Lagerungsverhältnisse gegenüber. Die Faktoren beider Gruppen sind dafür verantwortlich, wenn sich mit mehr oder weniger großen Abweichungen die Flora eines frisch geernteten Getreides von derjenigen nach einer kürzeren oder längeren Lagerungszeit unterscheidet.

Zum Zeitpunkt der Ernte sind Feldfrüchte von einer Primärflora besiedelt, die sich zusammensetzt aus der natürlichen Halm-, Blatt-, Körner- und Samenmikroflora der Pflanze und der Bodenmikroflora (Kontamination mit Staub und Erde) des jeweiligen Standortes (SCHMIDT, 1968). Daneben sind noch mannigfaltige Möglichkeiten der Verunreinigung während des Wachstums und der Reifung gegeben, z. B. durch Exkrememente von Vögeln und Nagern, sowie Insektenbefall (SPICHER, 1970, u. a.).

Quellen für eine sekundäre Keimbesiedlung während der Ernte, des Transportes und der Lagerung sind die lokalen keimhaltigen Biotope der Verarbeitungs- und Lagerstätten, sowie die Intestinalflora von Menschen und Tieren (SCHMIDT, 1968).

Auf diese Weise kommt eine sehr vielfältige und artenreiche Zusammensetzung zustande, und es bilden sich Lebensgemeinschaften, die zu mannigfaltigen Stoffwechselleistungen befähigt sind.

Die Keimzahlen können dabei beträchlich schwanken. SPICHER (1956) fand bei Untersuchungen von Brotgetreide, daß dafür im wesentlichen folgende Faktoren verantwortlich sind, nämlich

1. die Art des Getreides: Schon DÜGGELI (1904) stellte fest, daß Hafer im Vergleich zu den anderen von ihm untersuchten Getreidekörnern die höchsten Keimzahlen aufwies. SPICHER (1956) konnte bei Weizen eine stärkere Besiedlung feststellen als bei Roggen. SCHMIDT (1974) erwähnt, daß bei Mais im allgemeinen viel niedrigere Keimzahlen vorliegen als bei Ährengetreide. Die Ursache dafür ist nach SPICHER (1956) in der unterschiedlichen Struktur und Gestalt der Körner zu suchen.
2. die Lage des Anbaubgebietes: SPICHER (1956) konnte bei Weizen- und Roggenproben aus verschiedenen Teilen Deutschlands steigende Keimzahlen von Norden nach Süden feststellen. Er führt dies auf den Einfluß unterschiedlicher klimatischer Wachstumsbedingungen zurück, und
3. der Besatz: Je höher der Besatz, d. h. der Prozentanteil sämtlicher

Bestandteile einer Getreideprobe, die nicht einwandfreies Grundgetreide sind, z. B. Unkrautsamen, Spelzen, Insektenfragmente, Bruchkorn, Auswuchs, Fremdgetreide u. a. m., umso höhere Bakterienkeimzahlen sind zu erwarten (SPICHER, 1956).

Trotz der zuvor erwähnten vielfältigen Umwelteinflüsse, denen pflanzliche Produkte während der Reifung, Ernte und Lagerung ausgesetzt sind, ist die Bakterienflora der Cerealien, zumindest nach dem morphologischen Erscheinungsbild, zum Zeitpunkt der Ernte recht einförmig. SPICHER (1958) untersuchte erntefrische Weizen- und Roggenproben und fand, daß bei 84 % der Weizen- und 68 % der Roggenmuster sog. "Gelbkeime" mehr als die Hälfte der Gesamtpopulation ausmachten. Dieser Befund rechtfertigt es, diese Keimgruppe als die "Leitflora" des Getreides anzusprechen und alle anderen Stämme, - auch wenn sie sich ohne besondere Anreicherungsverfahren neben den Gelbkeimen auf gebräuchlichen Nährmedien entwickeln, - zur "Begleitflora" zu zählen (SPICHER, 1958).

Die Gelbkeime fand SPICHER (1958) als hauptsächlichen Vertreter der Cerealienflora mit der größten Regelmäßigkeit in erntefrischem Getreide, unabhängig vom Wassergehalt, ebenso häufig auf der Oberfläche von feuchten als auch von trockenen Getreidekörnern und spricht ihnen deshalb eine besondere Widerstandsfähigkeit gegenüber jeglichen Witterungseinflüssen zu. Gegenüber Lagerungseinflüssen hingegen erweisen sich die Gelbkeime als wenig resistent. Während eine Dominanz der Gelbkeime für die Flora erntefrischer Cerealien als repräsentativ angesehen werden kann, so daß dies zur Beurteilung des Frische- und Gesundheitszustandes des Getreides sogar diagnostisch verwertet werden kann (SCHMIDT, 1968), vermindert sich ihre Zahl schon bald nach der Einlagerung beträchtlich und schließlich verschwinden sie gänzlich (SPICHER, 1973).

THALMANN (1971) unternahm Lagerungsversuche mit Mischfuttermitteln und fand bereits nach einer Woche eine Abnahme des zahlenmäßigen Vorkommens der Gelbkeime.

Im Gegensatz zu dieser Leitflora des Getreides, deren Keime sowohl nach morphologischen Kriterien als auch nach physiologischen Merkmalen eine einheitliche Gruppe von Bakterien darstellt, möglicherweise gleicher Art- oder Gattungszugehörigkeit (SPICHER, 1966), ist die "Begleitflora" durch eine auffällige Heterogenität in den Eigenschaften gekennzeichnet, die auf einen großen Artenreichtum schließen läßt. Es befinden sich darunter Kokken ebenso wie sporenbildende und sporenlose Stäbchen, bzw. aerobe, mikroaerophile und anaerobe oder psychrophile, mesophile und thermophile Vertreter. SPICHER (1958) konnte nicht weniger als 41 verschiedene Merkmalskombinationen nachweisen. Bei 19,5 % dieser Keime handelte es sich um Kokken, 39,0 % erwiesen sich als sporenbildende und 41,5 % als sporenlose Stäbchen.

Während der Anteil der Keimarten der Begleitflora am Gesamtkeimgehalt zum Zeitpunkt der Ernte prozentual noch relativ gering ist, nimmt ihre Zahl im Laufe der Lagerung immer mehr zu, so daß sie schließlich ganz in den Vordergrund treten (SPICHER, 1973). THALMANN (1971) fand in Abhängigkeit vom Lagerungsstadium charakteristische Keimassoziationen. Nach seinen Untersuchungen verminderte sich zunächst die Gesamtkeimzahl, bedingt durch die Abnahme der Zahl der Gelbkeime, darauf folgte ein Anstieg der Bakterienzahl durch eine starke Vermehrung von Mikrokokken, schließlich verschwanden auch die Mikrokokken und Bazillusarten traten an ihre Stelle.

2.2.2.2 Anteil gelb pigmentierter Keime und ihre bisherige systematische Zuordnung

Beschreibungen gelb pigmentierter Bakterien, die aus Cerealien isoliert wurden, liegen von mehreren Autoren vor. Vom Beginn dieses Jahrhunderts an liegen Berichte vor (vgl. Tab. 3). Die hierbei an Getreide erhobenen Befunde entsprechen weitgehend den in der allgemeinen Übersicht über gelb pigmentierte Bakterien gemachten Angaben (vgl. 2.1.3). Die Beschreibungen beschränken sich hierbei allerdings aus-

schließlich auf gramnegative Stäbchen. Grampositive Kokken finden zwar als Mitbesiedler der Oberfläche von Getreidekörnern Erwähnung (SPICHER, 1958), auch ihre Bedeutung als mögliche Verderberreger von Futtermitteln wird angesprochen (GEDEK, 1973; SCHMIDT, 1974), aber dennoch sind die Angaben über gelb pigmentierte Kokken spärlich. SPICHER (1963) erwähnt lediglich, daß Vertreter der Gattungen *Micrococcus*, *Staphylococcus* und *Sarcina* auf Getreide vorkommen können und daß einige dieser Arten zur Pigmentbildung befähigt sind. Daten über die Häufigkeit ihres Auftretens fehlen, ebenso wie eine genauere Charakterisierung oder Angaben zu ihrer Differenzierung nicht vorliegen.

Untersuchungen zur Differenzierung gramnegativer Stäbchenbakterien aus Cerealien haben dagegen eine ganze Reihe von Autoren durchgeführt. Die Ergebnisse, zu denen sie dabei kamen, sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Während die älteren Forscher (DÜGGELI, 1904; HUSS, 1907) eine Nomenklatur ohne Beachtung einheitlicher Richtlinien anwendeten und teils binominale, teils trinominale Benennungen wählten, bemühten sich die späteren Untersucher (MACK, 1936; JAMES, 1955; DYE, 1964) mit Hilfe der Anwendung umfangreicher Verfahren, die ihnen zur Verfügung stehenden Stämme besser zu charakterisieren und die Nomenklatur zu vereinheitlichen. Dies führte dennoch zu immer neuen Namensgebungen oder gar zur Aufstellung weiterer Spezies für, wie JAMES (1955) und später auch SPICHER (1966) vermuten, ein- und diesselbe Keimart.

In der Tabelle 4 werden die Untersuchungsergebnisse einiger Autoren gegenübergestellt, um diese Problematik zu verdeutlichen. Obwohl sich, zumindest die von DYE (1964), SPICHER (1966) und JEMMALI (1968) untersuchten Keime kaum oder nur unwesentlich in ihren Merkmalen unterscheiden, kommt jeder der genannten Autoren zu einem anderen Ergebnis bei der systematischen Zuordnung. Während JAMES (1955) für seine, aus Weizen, Gerste und Hafer isolierten Stämme die Benennung "*Xanthomonas trifolii*" vorschlägt, ordnet DYE (1964) seine Stämme der Gattung *Erwinia* zu. SPICHER (1966) läßt die Frage nach der systematischen Stellung der als "typische" oder "eigentliche" Gelbkeime bezeichneten Gruppe offen, da

er die Art der Begeißelung nicht eindeutig klären konnte, weist aber darauf hin, daß bei polarer Anordnung der Geißeln die Gattung *Xanthomonas*, bei peritricher Begeißelung die Gattung *Flavobacterium* in Frage käme. Für eine Zugehörigkeit zur Gattung *Erwinia* ergaben seine Untersuchungen keine Handhabe. Neben Gelbkeimen mit gleichen Merkmalen fand SPICHER (1966) jedoch noch eine zweite Gruppe von gelb pigmentierten Bakterien ("Stämme gleicher morphologischer Prägung"), die sich in ihren physiologischen Eigenschaften sehr heterogen verhielten. Entsprechend breit ist das Spektrum der Gattungen, die für ihre Zuordnung in Frage kommen (vgl. Tab. 3).

JEMMALI (1968) beschränkte seine Untersuchungen auf gelb pigmentierte, gramnegative Stäbchen mit fermentativem Stoffwechsel und weist noch einmal eindringlich auf die Problematik der Differenzierung und die unsichere systematische Stellung dieser Keime hin. Er klassifiziert seine Stämme als pigmentierte Formen von *Enterobacter cloacae*, unter dem Hinweis, daß die Gattungen *Erwinia* und *Enterobacter* nach morphologischen Kriterien und biochemischen Stoffwechselleistungen nur sehr schwer oder gar nicht zu trennen seien und daß nach neueren Empfehlungen zur Klassifizierung der *Enterobacteriaceae* demgemäß beide Gattungen zu einem Genus unter dem Namen *Enterobacter* zusammengefaßt werden könnten. Zur endgültigen Klärung der systematischen Stellung dieser Keime schlägt er eine Charakterisierung durch Typisierung mittels Phagen und durch serologische Tests vor.

Tabelle 3: Merkmale gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien aus Cerealien und ihre unterschiedliche systematische Zuordnung

Autor	Fundort	Merkmale	System. Zuordnung
DÜGGELI (1904)	Weizen, versch. Samen	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, fakultativ an- aerob	Bacterium herbicola aureum
HUSS (1907)	Kleeheu, Hafer	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, polare Geißel, aerob	Pseudomonas trifolii
MACK (1936)	Pflanzen allgem., Weizen, Roggen, Hafer, Gerste	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, 2 polare Gei- ßeln, fakultativ anaerob	Flavobacterium herbicola
JAMES (1955)	Pflanzen allgem., Weizen, Gerste, Hafer	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, polare Geißel	Xanthomonas trifolii
DYE (1964)	Pflanzen allgem.	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, peritrich begei- ßelt, fakultativ anaerob	Erwinia herbicola
SPICHER (1966)	Weizen, Roggen	"Eigentliche Gelbkeime": Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, polar (?) oder peritrich (?) begeißelt, fakultativ anaerob	Xanthomonas (?) Flavobacterium (?)

Fortsetzung Tabelle 3:

Autor	Fundort	Merkmale	System. Zuordnung
SPICHER (1966)	Weizen, Roggen	"Begleitflora gleicher morphologischer Prägung": Gelbes od. gelbliches Pigment, sonst sehr heterogen	Flavobacterium, Aerobacter, Paracolobactrum, Pseudomonas, Kurthia, Brevibacterium
GRAHAM und HODGKISS (1967)	Pflanzen allgem., Hafer	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, Anordnung und Zahl der Geißeln variabel, fakultativ anaerob	Erwinia Flavobacterium (?)
JEMMALI (1968)	Cerealien (Mais, Weizen) und Ölsamen	Gelbes Pigment, gramneg., beweglich, peritrich begeißelt, fakultativ anaerob	Enterobacter (pigmentierte Formen von E. cloacae)

Tabelle 4: Gegenüberstellung der Angaben über Eigenschaften von verschiedenen Autoren bisher untersuchter Gelbkeime des Getreides

Autor	JAMES (1955)	DYE (1964)	SPICHER (1966)	JEMMALI (1968)
Herkunft d. Stämme	Kanada	Neuseel.	Europa	Frankreich
Anzahl d. Stämme	66	5	229	o
Nomenklatur	Xanthomonas trifolii	Erwinia herbicola	"Typische" Gelbkeime	Enterobac- ter cloacae
Pigmentierung	gelb	gelb	gelb	gelb
Zellform	Stäbchen	Stäbchen	Stäbchen	Stäbchen
Zellgröße: Länge	0,7-2,5µm	o	1,6-2,5µm	1,0-3,0µm
Breite	0,7µm	o	o	o
Gram-Verhalten	negativ	negativ	negativ	negativ
Katalase	o	+	+	+
O ₂ -Bedarf	o	fak. anaer.	fak. anaer.	fak. anaer.
Glucoseverwertung O/F-Test:	o	O/F	O/F	O/F
Beweglichkeit	+	+	+	+
Lage d. Geißeln	polar	peritrich	peritrich	peritrich
Optimale Temp.	o	37-39°C	10-40°C	30°C
Indol-Bildung	-	-	-	-
H ₂ S-Bildung	+	+	-	-
Nitratreduktion	+	+	+	+
Voges-Proskauer- Reaktion	o	o	+	+
Methylrot-Test	o	o	-	-
Lactoseabbau	v	v	-	v
Stärkespaltung	-	-	-	-
Gelatineverflüssigung	(+)	v	+	+
Fettspaltung	v	-	o	o

o = keine Angaben

v = variabel

() = schwache Reaktion

+

= alle Stämme positiv

- = alle Stämme negativ

O/F = oxidativer und fermentativer Glucose-

abbau

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Verfahren zur Erfassung des Keimbesatzes der Cerealien

3.1.1.1 Anzahl und Herkunft der Proben

Zur Untersuchung kamen Proben von Mais, Weizen, Gerste und Hafer verschiedener Erntejahre und unterschiedlicher Provenienz. Die Muster waren im Laufe der Jahre 1975, 1976 und 1977 von der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft an das Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereiches Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität zur Kontrolle des Besatzes mit Pilzen eingesandt worden.

Einen Überblick über die insgesamt untersuchten 110 Proben nach Art, Zahl, Erntejahr und Anbaugesbiet gibt Tabelle 5.

Tabelle 5: Aufschlüsselung des Untersuchungsmaterials nach Art, Erntejahr und Herkunft

Getreideart	Erntejahr	Zahl d. Proben insgesamt	Herkunft (unter Angabe der Verteilung auf die verschiedenen Länder)
MAIS	1974	28	USA (21), Frankreich (5), BRD (2)
	1975	10	USA (3), Frankreich (3), BRD (2), Balkan (1), Jugoslawien (1)
	1976	25	USA (11), BRD (8), Jugoslawien (2), Frankreich (1), Balkan (1), Bulgarien (1), Brasilien (1)
WEIZEN	1974	3	BRD (3)
	1975	21	BRD (20), USA (1)
	1976	5	BRD (5)
GERSTE	1975	10	BRD (9), Belgien (1)
	1976	2	BRD (2)
HAFER	1975	4	BRD (4)
	1976	2	DDR (2)

3.1.1.2 Methoden zur Bestimmung des Gesamtkeimgehaltes und zur Erfassung gelb pigmentierter Keime unter Berücksichtigung der Anteile an Fett-, Casein- und Stärkespaltern

Von jeder Probe wurde 10 g Material abgewogen, im sterilen Mörser zerkleinert und in eine 250 ml Schraubflasche mit 90 ml Pepton-NaCl-Wasser (0,1 % Pepton und 0,85 % NaCl) unter Wahrung der Sterilität überführt. Nach einer Schüttelzeit von 20 Minuten wurden weitere Verdünnungen im Verhältnis 1:10 hergestellt und von drei Verdünnungsstufen - in der Regel den Stufen 10^{-1} , 10^{-2} und 10^{-3} , falls nötig höher - wurden jeweils 0,1 ml auf der Oberfläche der folgenden Nährmedien ausgespatelt:

1. Plate-Count-Agar (PC-Agar; Difco, Nr. 0479-01), zur Feststellung der Gesamtkeimzahl und des Vorkommens gelb pigmentierter Bakterien
2. Violet-Red-Bile-Agar (VRB-Agar; Oxoid, Nr. CM 107), zur Erfassung gelbes Pigment bildender Enterobacteriaceae
3. Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar (GSP-Agar; Merck, Nr. 10230), für den Nachweis der Pseudomonas/Aeromonas-Gruppe
4. Tributyrin-Agar (Basis: Merck, Nr. 1957; Glycerin-Tributyrat: Merck, Nr. 1958), zur Erfassung der Keime mit lipolytischer Aktivität
5. Calcium-Caseinat-Agar nach FRAZIER und RUPP, modifiziert, (Merck, Nr. 5409), zur Bestimmung der Bakterien mit caseinolytischen Eigenschaften
6. Stärke-Agar (nach HALLMANN und BURKHARDT, 1974), zum Nachweis der Stärkespalter

Die Platten wurden zunächst 24 Stunden bei 37°C, danach 3 Tage bei Zimmertemperatur bebrütet, die Auswertung erfolgte am 4. Tag. Eine Keimzahlbestimmung wurde für alle Nährmedien gesondert vorgenommen, durch Auszählen aller Platten, die zwischen 20 und 200 Kolonien aufwiesen und Multiplikation mit dem jeweiligen Verdünnungsfak-

tor. Auf PC-Agar wurde zusätzlich der Anteil an gelb pigmentierten Keimen festgestellt. Der Anteil an Fett-, Casein- und Stärkespaltern wurde ebenfalls festgehalten. Fettspaltende und caseinspaltende Keime gaben sich auf den entsprechenden Nährmedien durch Aufhellungshöfe um die Kolonie zu erkennen, die Stärkespalter konnten durch Überfluten des Nährbodens mit Lugol'scher Lösung (DAB 7), 1:5 verdünnt, sichtbar gemacht werden. Bei stärkehydrolysierenden Keimen entsteht ein sich nicht anfärbender Hof um die Kolonie, während das übrige Substrat sich tiefblau verfärbt.

Um die Einzelergebnisse zusammenfassen und einander gegenüber stellen zu können, wurden die Keimzahlen logarithmiert und dafür Logarithmus 10 verwendet. Damit ist es möglich, eine Keimzahl z. B. von 2 Millionen, statt mit $2,0 \times 10^6$ als $\log 6,3$ auszudrücken. Die Einzelwerte lassen sich auf diese Weise zur Berechnung der Mittelwerte auch leichter addieren und Keimzahlunterschiede, die kleiner als eine Zehnerpotenz waren werden nicht überbetont, durch die Angabe mit nur einer Stelle hinter dem Komma.

Die Berechnung der Mittelwerte erfolgte nach der Formel: $\log \bar{x} = \frac{\log x_n}{n}$. Außer den errechneten Mittelwerten werden bei der Wiedergabe der Befunde die jeweiligen effektiv ermittelten Extremwerte mit angegeben, z. B. 3,8 (2,6 - 5,1).

3.1.1.3 Isolierung und Konservierung der gelb pigmentierten Keime

Bakterien, die auf Plate-Count-Agar gelbe Kolonien bildeten, wurden isoliert, indem sie zunächst auf Nähragar (Oxoid, Nr. CM 55) abgeimpft und durch Anlegen eines Verdünnungsausstriches auf Reinheit geprüft wurden. Danach erfolgte die Überführung auf einen zur Konservierung geeigneten Nährboden und die Aufbewahrung bis zur weiteren Untersuchung im Kühlschrank bei 4°C.

Der Konservierungsagar wurde nach folgendem Rezept hergestellt:

10 g Pepton aus Fleisch, tryptisch verdaut (Merck, Nr. 7214), 10 g Lie-

big-Fleischextrakt und 5 g NaCl werden in 500 ml Aqua dest. gelöst, nach Einstellen des pH auf 8,0 gekocht und filtriert, danach mit 20 g in 500 ml Aqua dest. über Nacht eingeweichtem Agar zusammengegeben, 30 Minuten autoklaviert und in kleine Reagenzgläser (10 ml) zu jeweils 4,2 ml abgefüllt. Nach nochmaligem 10 Minuten langem Autoklavieren, wurden die Röhrchen bis zum Erstarren des Agars in Schräglage gebracht und nach dem Beimpfen mit in heißes Paraffin getauchte Korken verschlossen.

Die Zahl der aus den einzelnen Proben gewonnenen Stammkulturen steht in Relation zu den unterschiedlichen Wuchsformen, die von den gelb pigmentierten Keimen in der Erst- und in der Subkultur entwickelt wurden. Nach der Reinzüchtung wurde von jeder dieser Wuchsformen eine Kolonie isoliert und die daraus sich entwickelnde Kultur als ein Stamm aufgefaßt.

3.1.2 Verfahren zur Charakterisierung der isolierten Keime

3.1.2.1 Differenzierung nach morphologischen Kriterien

Die auf Nähragar gewachsenen Einzelkolonien wurden nach 72 Stunden Bebrütung (24 Stunden bei 37°C und 48 Stunden bei Zimmertemperatur) nach den morphologischen Kriterien der Größe und Form, Oberflächenbeschaffenheit und Pigmentierung beurteilt. Zuvor waren zur Feststellung der Zellmorphologie von den zwei Tage alten Kulturen Objektträgerausstriche angefertigt worden, die nach Gram gefärbt wurden. Außer auf das Verhalten nach Gram wurde auf Zugehörigkeit zu den Kokken oder Stäbchen, sowie auf die Lagerung der Keime zueinander geprüft. Eine Untersuchung der Stäbchenbakterien im Beweglichkeitstest wurde nicht vorgenommen, da diese Prüfung bei gelb pigmentierten Keimen nur differentialdiagnostisch verwertet werden kann, wenn zugleich eine Aussage möglich ist über die Lokalisation der Geißeln. Alle bisher durch-

geführten lichtoptischen Untersuchungen befriedigten in dieser Hinsicht nicht, so daß im Rahmen dieser Untersuchungen darauf, zugunsten der Prüfung nach physiologischen Kriterien, verzichtet wurde.

3.1.2.2 Differenzierung nach physiologischen Kriterien

Zur Charakterisierung der isolierten Stämme aufgrund von physiologischen Eigenschaften wurden Merkmale herangezogen, die nach der Literatur (BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974) geeignet erschienen, zumindest eine Differenzierung bis zur Gattung vornehmen zu können. Davon unabhängig sollten ergänzend dazu Verfahren zur Anwendung kommen, die bei früheren Untersuchungen derartiger Bakterien, insbesondere für "Gelbkeime" verwendet worden waren (DYE, 1964; SPICHER, 1966; JEMMALI, 1968), um einen Vergleich der hier getesteten Stämme aus Cerealien mit denen anderer Autoren zu ermöglichen. Demgemäß wurden die isolierten, gelb pigmentierten Stämme je nach Zugehörigkeit zu den Stäbchenbakterien oder Kokken einer Reihe von Tests unterzogen, über die die Aufstellung in Tabelle 6 eine Übersicht gibt.

Um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben, mit bereits näher definierten Stämmen, wurden 11 Referenzstämme der American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, Maryland, U.S.A., in die Prüfung einbezogen. Es handelte sich hierbei ausnahmslos um gelb pigmentierte Vertreter gramnegativer Stäbchenbakterien verschiedener Gattungen und Familien, da bei diesen Keimen die größte Formenvielfalt angetroffen wurde und deren Differenzierung zugleich auch die größten Schwierigkeiten bereitet. Sie sind nachstehend namentlich - mit Angabe der jeweiligen ATCC-Nummer in Klammern - aufgeführt:

1. *Cytophaga johnsonae* (ATCC 17061)
2. *Flavobacterium breve* (ATCC 14234)
3. *Flavobacterium devorans* (ATCC 10829)

4. *Erwinia herbicola* (ATCC 12287)
5. *Erwinia uredovora* (ATCC 19321)
6. *Erwinia stewartii* (ATCC 8199)
7. *Escherichia adecarboxylata* (ATCC 23216)
8. *Escherichia aurescens* (ATCC 12814)
9. *Alcaligenes paradoxus* (ATCC 17713)
10. *Pseudomonas mendocina* (ATCC 25411)
11. *Pseudomonas palleroni* (ATCC 17724)

Tabelle 6: Geprüfte Merkmale

Gramnegative Stäbchenbakterien mit gelbem Pigment	Grampositive Kugelbakterien mit gelbem Pigment
Bildung von: Katalase Oxidase Hämolyisin DNase Lezithinase H₂S Indol Spaltung von: Fett Casein Gelatine Stärke Lactose Oxidations/Fermentations-Test Nitratreduktion KCN-Empfindlichkeit Antibiotika-Sensibilität: Bacitracin 10 µg Penicillin G 10 E. Erythromycin 15 µg Ampicillin 10 µg Polymyxin B 300 E. Novobiocin 5 µg Virginiamycin 15 µg	Bildung von: Katalase Hämolyisin DNase Plasmakoagulase Spaltung von: Fett Casein Stärke Oxidations/Fermentations-Test Anaerobe Mannitspaltung Antibiotika-Sensibilität: Bacitracin 10 µg Penicillin G 10 E. Carbenicillin 100 µg Gentamicin 10 µg Polymyxin B 300 E. Novobiocin 5 µg Neomycin 10 µg

Insgesamt wurden 17 verschiedene Tests zur Charakterisierung der aus dem Untersuchungsmaterial isolierten, gelb pigmentierten Bakterienstämme nach physiologischen Kriterien eingesetzt, zu deren Durchführung und Auswertung im folgenden nähere Angaben gemacht werden.

Soweit bei der Beschreibung der einzelnen Tests nichts anderes vermerkt ist, wurden die Nährmedien einheitlich folgendermaßen bebrütet: zunächst 24 Stunden bei 37°C, danach bis zur endgültigen Auswertung bei Zimmertemperatur, wegen des bei diesen Keimen in der Regel unter 30°C liegenden Wachstumsoptimums.

1. Katalase-Bildung

Die Prüfung auf Katalase wurde nach der von HALLMANN und BURKHARDT (1974) beschriebenen Methode durchgeführt: Zu ca. 5 ml einer kräftig beimpften Standard-I-Bouillon-Kultur (Merck, Nr. 7882) gibt man ca. 1 ml einer 3%igen H_2O_2 -Lösung. Das Ergebnis ist positiv, wenn es zur Gasentwicklung binnen 1 - 2 Minuten kommt.

Bei den Kokken wurden 24 Stunden alte Bouillon-Kulturen verwendet, die langsamer wachsenden Stäbchenbakterien wurden erst nach 48 Stunden geprüft.

2. Cytochromoxidase-Reaktion

Diese Prüfung erfolgte mit Patho-Tec-CO-Teststreifen der Firma Goedecke, Freiburg: Auf einen mit Tetramethylparaphenylendiamindihydrochlorid präparierten Teststreifen wurde eine 24 Stunden alte Einzelkolonie mit einer sterilen Platinöse von Nähragar (Oxoid, Nr. CM 55) übertragen und verrieben. Eine positive Reaktion in Form einer deutlichen Blaufärbung der Reagenzienzone des Teststreifens stellte sich binnen 30 Sekunden ein.

3. Hämolyse-Bildung

Auf Blutagar (Blood Agar Base, Oxoid, Nr. CM 55 mit Zusatz von 7 % Hammelblut) wurden die Kulturen strichförmig übertragen und die Bildung etwaiger Hämolysezonen täglich bis zum 4. Tag beurteilt.

4. Desoxiribonuclease-Bildung

Auf DNase-Testagar der Firma BBL (Nr. 11178) strichförmig überimpfte Kulturen wurden am 4. Tag durch Überfluten mit 1 n Salzsäure ausgewertet. Eine Klärungszone um den Impfstrich zeigt den Abbau der Desoxiribonucleinsäure an.

5. Lezithinase-Bildung

Die Fähigkeit, Phospholipase (=Lezithinase) zu bilden, wurde auf dem Lezithin-Agar nach CHRISOPE et al. (1976) geprüft. Der Nährboden wurde strichförmig beimpft und am 4. Tag auf Trübungs- oder Aufhellungszonen um den Impfstrich herum untersucht. Eine Trübung zeigt die Bildung von Phospholipase C an; bei einer Aufhellung handelt es sich um Phospholipase A.

6. Plasmakoagulase-Test

Dieser Test wurde als Objektträger-Methode nach HALLMANN und BURKHARDT (1974) durchgeführt: Kulturmaterial wurde in einem Tropfen Kaninchenplasma (gewonnen aus Zitratblut) verrieben und auf Klumpenbildung untersucht. Positive Reaktionen traten meist sofort, spätestens aber nach 2 Minuten ein. Zur Kontrolle wurde der Test parallel mit physiologischer NaCl-Lösung durchgeführt.

7. Bildung von H_2S und Indol

Diese beiden Eigenschaften wurden gemeinsam auf SIM-Nährboden (Merck, Nr. 5470) geprüft. Die im Stichverfahren beimpften Röhrchen wurden am 4. Tag ausgewertet. Eine Schwärzung des Nährbodens gibt H_2S -Bildung an, der Indolnachweis wird durch Überfluten der Kulturen mit KOVACS-Indolreagenz (Merck, Nr. 9293) geführt. Rotfärbung der Flüssigkeit bedeutet eine positive Reaktion.

8. Fettspaltung

Tributyryn-Agar (Basis: Merck, Nr. 1957; Glycerin-Tributytrat: Merck, Nr. 1958) wurde mit ca. 2 cm langem Impfstrich versehen und am 4. Tag auf die Spaltung des Reaktionskörpers Glycerin-Tributytrat unter-

sucht. Positive Stämme geben sich durch Aufhellungshöfe um die Kolonie zu erkennen.

9. Caseinspaltung

Calcium-Caseinat-Agar nach FRAZIER und RUPP, modifiziert, (Merck, Nr. 5409) wurde strichförmig beimpft und das Ergebnis am 4. Tag abgelesen. Positive Resultate in Form von Klärungszonen um den Impfstrich waren im allgemeinen deutlich erkennbar.

10. Gelatineverflüssigung

Standard-I-Bouillon (Merck, Nr. 7882) wurde mit einer Öse voll Kulturmaterial beimpft, mit einer Kohle-Gelatine-Scheibe (Oxoid, Nr. BR 10) beschickt und 7 Tage lang bebrütet. Eine positive Reaktion war durch das Auflösen der Kohle-Gelatine-Scheibe und die Schwarzfärbung der Bouillon durch freigesetzte Kohleteilchen gekennzeichnet.

11. Stärkespaltung

Die Prüfung des Stärkeabbaus wurde auf dem von HALLMANN und BURKHARDT (1974) beschriebenen Nährboden mit Zusatz von 0,2 % löslicher Stärke (Merck, Nr. 1252) durchgeführt. Der Agar wurde strichförmig beimpft und am 4. Tag durch Überfluten mit Lugol'scher Lösung (DAB 7), 1:5 verdünnt, ausgewertet. Bei positivem Resultat blieb um den Impfstrich eine Zone, die sich nicht anfärben ließ, der übrige Nährboden verfärbte sich blau.

12. Lactoseabbau

Die Prüfung auf Lactoseverwertung erfolgte im Medium nach HUGH und LEIFSON (1953) mit Zusatz von 1 % Lactose (Merck, Nr. 7656). Die Röhrchen wurden im Stichverfahren beimpft und 7 Tage lang bebrütet. Der Abbau von Lactose zeigte sich durch einen Farbumschlag des Mediums von grün nach gelb infolge Säurebildung an.

13. Oxidations/Fermentations-Test

Bei diesem Test kam das Medium nach HUGH und LEIFSON (1953) mit Zusatz von 1 % Glucose (Merck, Nr. 8342) zur Anwendung. Pro Kultur

wurden zwei Röhrchen im Stichverfahren beimpft und eines davon sofort mit sterilem flüssigem Paraffin überschichtet, um anaerobe Verhältnisse herzustellen. Nach einer Bebrütungsdauer von 7 Tagen erfolgte die Auswertung. Bei oxidativem Stoffwechsel trat Gelbfärbung nur im offenen, für Sauerstoff zugänglichen Röhrchen ein, bei fermentativem Abbau färbten sich beide Röhrchen gelb. Inerte Kulturen führten weder im Oxidations- noch im Fermentations-Röhrchen zur Säuerung, das Medium blieb unverändert grün.

14. Anaerobe Mannitspaltung

Diese Prüfung wurde in dem von GEDEK (1972) empfohlenen Medium durchgeführt. Die zu 2/3 gefüllten Röhrchen wurden kräftig beimpft, sodaß das Inokulum den Röhrchenboden erreichte, mit einer sterilen Paraffinöl-Schicht bedeckt und 7 Tage bebrütet. Eine Spaltung des Zuckerkalkohols Mannit (Merck, Nr. 5982) zeigte sich durch den eintretenden Farbumschlag des Indikators Bromkresolpurpur von rot nach gelb infolge Säurebildung an. Positiv beurteilt wurde nur eine Säuerung bis in den Grund des Röhrchens. Ein Farbumschlag nur nahe der Oberfläche wurde als negativ beurteilt.

15. Nitratreduktion

In kleinen Kappenröhrchen wurde eine Öse voll Kulturmaterial in 0,3 ml physiologischer NaCl-Lösung suspendiert. Patho-Tec-NR-Teststreifen der Firma Goedecke, Freiburg, wurden mit der Substratzone in die Bakteriensuspension getaucht, die Reagenzgläser verschlossen und 4 Stunden bei 37°C inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde durch kurzes Kippen der Röhrchen um 80° die Indikatorzone des Teststreifens benetzt und eine Verfärbung nach rosa bis rot abgewartet. Eine etwaige positive Reaktion stellte sich innerhalb von 2 Minuten ein.

16. KCN-Empfindlichkeit

Die Wachstumshemmung durch Zusatz von Kaliumcyanid wurde in dem Medium nach MØLLER getestet (Basis: Merck, Nr. 5412, mit Zusatz von 1,5 ml einer 0,5%igen, wässrigen KCN-Lösung pro 100 ml Bouillon-Basis; Kaliumcyanid: Merck, Nr. 4967). Die Röhrchen wurden mit

einem Tropfen einer, mit physiologischer NaCl-Lösung stark verdünnten, Bakteriensuspension so beimpft, daß das Inokulat die KCN-Bouillon nicht trübte, mit sterilem Gummistopfen dicht verschlossen und nach 7 Tagen Bebrütung ausgewertet. Eine Trübung der Bouillon, auch eine sehr schwache, wurde als positiv bewertet, eine völlig klar gebliebene Bouillon als negativ.

17. Antibiotika-Sensibilitätstest

Die Prüfung auf Wachstumshemmung durch verschiedene antibakterielle Stoffe erfolgte als qualitativer Test mit dem Plattendiffusionsverfahren. Von 24 Stunden alten Standard-I-Bouillon-Kulturen (Merck, Nr. 7882), 1:1 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, wurde eine Öse der Flüssigkeit auf Iso-Sensitest-Agar (Oxoid, Nr. CM 471) verimpft und ausgespatelt. Nach Auflegen der Testblättchen wurden die Platten zunächst 1 Stunde bei Zimmertemperatur aufbewahrt und anschließend wegen des verzögerten Wachstums der Keime 48 Stunden lang bei 37°C bebrütet. Eine Bewertung wurde unter Berücksichtigung der Hemmhofgröße als sensibel (S) oder resistent (R) vorgenommen. Teilweise resistente Stämme wurden als sensibel eingestuft.

Verwendet wurden Testblättchen der Firma Oxoid (Penicillin G, Carbenicillin, Ampicillin, Gentamicin, Polymyxin B, Novobiocin, Neomycin, Erythromycin) und des Institut Pasteur (Bacitracin, Virginiamycin). Die Auswahl der geprüften Antibiotika richtete sich nach Angaben der Empfindlichkeit bzw. Resistenz der gelb pigmentierten Keimarten in der Literatur (BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974; SPICHER, 1966).

Ergänzend zu den hier aufgeführten Tests (vgl. hierzu Tab. 6) wurde bei den gramnegativen Stäbchenbakterien noch überprüft, inwieweit Violet-Red-Bile- und Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar selektiv auf das Wachstum der verschiedenen Vertreter gelb pigmentierter Keime des Getreides wirken. Hierzu wurden wiederum die festen Nährböden strichförmig mit den zu prüfenden Stämmen beimpft und nach 72 Stunden Bebrütung (24 Stunden bei 37°C und 48 Stunden bei Raumtemperatur) die Bewertung vorgenommen.

3.2 Ergebnisse und deren Besprechung

3.2.1 Ergebnisse der Bestimmung des Keimgehaltes von Cerealien

3.2.1.1 Auswertung der Resultate der Keimzählung unter Berücksichtigung von Erntejahr und Herkunft der Proben

Die Mittelwerte der Gesamtkeimzahlen der insgesamt 110 untersuchten Proben mit Angabe der jeweiligen Extremwerte und die Verteilung der im einzelnen festgestellten Keimgehalte von Bakterien auf bestimmte Keimzahlbereiche gehen aus der Tabelle 7 hervor. Im oberen Teil dieser Tabelle wurden die, bei der Untersuchung von Mais erhaltenen Ergebnisse unter Berücksichtigung von Erntejahr und Herkunft einander gegenübergestellt und dabei eine Unterscheidung nach der Herkunft aus europäischen und außereuropäischen Anbaugebieten vorgenommen.

Um gleichzeitig die Möglichkeit zu haben, die Keimzahlen von kürzer und länger gelagertem Mais vergleichen zu können, wurden die Ergebnisse der Proben der Erntejahre 1974 und 1975 (38 Muster) zusammengefaßt, die Resultate der Proben des Erntejahres 1976 (25 Muster) aber getrennt von diesen aufgeführt.

Dieser Gegenüberstellung läßt sich entnehmen, daß sich die Mittelwerte der Keimzahlen weniger nach Provenienz als vielmehr nach Lagerungsdauer voneinander unterscheiden. Beim Mais der Erntejahre 1974 und 1975 stimmen die Mittelwerte der europäischen und außereuropäischen Proben sogar genau überein, bei den Mustern des Jahres 1976 liegt die Keimzahl der nichteuropäischen Proben nicht erheblich über dem Durchschnittswert der Proben europäischer Herkunft. Die Differenz in den Gesamtkeimzahlen länger oder kürzer gelagerter Proben beträgt nach den Mittelwerten der beiden Gruppen weniger als eine Zehnerpotenz/g und wäre als geringgradig zu bezeichnen im Vergleich zum Keimbesatz bei Ährengetreide, insbesondere Gerste und Hafer. Die Aufschlüsselung der Ergebnisse nach der Verteilung der Einzelwerte auf die in Tabelle 7 angegebenen Keimzahlbereiche ergibt ein allerdings etwas anderes Bild.

Es geht daraus hervor, daß, mit einer Ausnahme, alle aus Europa stammenden Muster Keimzahlen bis maximal $\log_{10} 5,0/g$ aufwiesen. Lediglich eine Probe des Erntejahres 1975 fiel dadurch auf, daß ihre Keimzahl extrem hoch lag (8,8), und sie muß auch für die Hebung des Mittelwertes in dieser Gruppe verantwortlich gemacht werden, so daß er dem der Proben außereuropäischer Provenienz der Erntejahre 1974 und 1975 gleichkommt. Die Keimgehalte der Muster außereuropäischer Herkunft verteilen sich dagegen gleichmäßiger auf die einzelnen Bereiche; bei den Proben des Erntejahres 1976 wurden sogar Einzelwerte in den oberen ($> 5,0$) sowie in den unteren Keimzahlbereichen ($< 5,0$) mit gleicher Häufigkeit festgestellt.

Nach diesen Ergebnissen sind höhere Keimzahlen beim Mais anscheinend vor allem dann zu erwarten, wenn er außereuropäischer Herkunft ist, oder auch je kürzer die Lagerungszeit ist.

Im Anschluß daran gibt die Tabelle 7 im unteren Teil das Gesamtergebnis der an Mais durchgeführten Keimgehaltsbestimmung wieder und stellt es den Befunden gegenüber, die ohne Rücksichtnahme auf Erntejahr und Provenienz jeweils insgesamt bei der Untersuchung der drei Arten von Ährengetreide erhoben wurden. Mais erwies sich damit als am keimärmsten in Bezug auf das Vorkommen von Bakterien; es folgt Weizen, dann Gerste und schließlich Hafer. Beim Hafer lagen zugleich die geringsten Schwankungen in den Einzelwerten vor (Tab. 7). Die Häufigkeitsverteilung auf die verschiedenen Keimzahlbereiche bestätigt dies. Beim Mais mit dem geringsten Durchschnittswert ist die größte Streubreite zu verzeichnen.

Tabelle 7: Ergebnisse der Gesamtkeimzahl-Bestimmung und Häufigkeitsverteilung der bei der Untersuchung von 110 Proben im einzelnen festgestellten Bakterien-Keimzahlen pro Gramm

Art und Anzahl der Proben	log ₁₀ der Keimzahlen Mittelwert (Extremwerte)	Verteilung der Einzelwerte auf folgende log ₁₀ -Bereiche					
		> 2,0- < 3,0	> 3,0- < 4,0	> 4,0- < 5,0	> 5,0- < 6,0	> 6,0	
MAIS 1974/1975							
Europäisch: 14	3,8 (2,3 - 8,8)	3	8	2	-	1	
Außereurop.: 24	3,8 (2,6 - 5,1)	1	13	9	1	-	
MAIS 1976							
Europäisch: 13	4,0 (2,8 - 4,9)	2	4	7	-	-	
Außereurop.: 12	4,7 (2,8 - 6,8)	1	4	1	4	2	
MAIS 1974/1975: 38	3,8 (2,3 - 8,8)	4	21	11	1	1	
1976: 25	4,3 (2,8 - 6,8)	3	8	8	4	2	
MAIS							
63	4,0 (2,3 - 8,8)	7	29	19	5	3	
WEIZEN	4,9 (3,1 - 6,4)	-	6	8	13	2	
GERSTE	6,0 (4,4 - 7,7)	-	-	1	5	6	
HAFER	6,7 (6,1 - 7,3)	-	-	-	-	6	

3.2.1.2 Qualitativer und quantitativer Nachweis von gelb pigmentierten Bakterien bei Verwendung unterschiedlicher Nährböden

Der Anteil gelb pigmentierter Bakterien an der jeweiligen Gesamtkeimzahl wurde prozentual ermittelt. Bei der Wiedergabe der Befunde wurde wiederum Wert darauf gelegt, die Einzelwerte zusammenzufassen, um die Häufigkeitsverteilung leichter ablesen zu können (Tab. 8). Beim Mais fand Berücksichtigung aus welchem Erntejahr die Proben stammten. Sowohl bei den länger gelagerten Maisproben (Erntejahre 1974/75), als auch nach kürzerer Lagerungszeit (Erntejahr 1976) stellten bei 60 % und mehr der Proben die gelb pigmentierten Keime weniger als ein Viertel der insgesamt daraus züchtbaren Bakterien. Eine unwesentlich voneinander abweichende Zahl von Proben wies jeweils mehr als 25 % Gelbkeime auf, nämlich von 1974/75 13 Proben = 34,2 % und von 1976 10 Proben = 40 %.

Auch bei den übrigen Getreidearten, bei denen eine Aufschlüsselung nach Erntejahr unterlassen wurde, war kein Einfluß des Faktors Lagerungsdauer in Bezug auf das prozentuale Vorkommen gelb pigmentierter Bakterien feststellbar.

Dagegen ergaben sich bei einem Vergleich der verschiedenen Arten von Cerealien (Tab. 8, Mitte und unten) deutliche Unterschiede. Während bei 40 der 63 insgesamt untersuchten Maisproben weniger als 25 % gelb pigmentierte Keime nachweisbar waren, enthielten 24 von 29 Weizenmüslproben, 11 von 12 Gerstenproben, sowie alle 6 Haferproben über 25 % Gelbkeime. Bei 34 der 47 Proben Ährengetreide waren diese Keime zu mehr als 50 % vertreten. Während in acht Maisproben (= 12,7 %) keine gelbes Pigment bildende Bakterienarten gefunden werden konnten, waren, mit Ausnahme von einer Gerstenprobe, in sämtlichen Proben Ährengetreide derartige Keime nachweisbar.

Das Ergebnis weist darauf hin, daß möglicherweise nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ Unterschiede in der Besiedlung mit diesen Keimen bei Mais und Ährengetreide bestehen, so daß es gegebenenfalls sinnvoll erscheint, die Ergebnisse getrennt voneinander zu betrachten.

Tabelle 8: Prozentualer Anteil gelb pigmentierter Bakterien an der Gesamtkeimzahl in Getreide nachgewiesener Bakterien

Getreideart, Ernte- jahr und Gesamt- zahl der Proben		Anzahl der Proben mit prozentualem Vorkommen im entsprechenden Bereich					
		keine	10 %	10-25 %	25-50 %	50-75 %	75-100 %
MAIS							
1974/75	38	3	11	11	6	3	4
1976	25	5	6	4	5	3	2
MAIS	63	8	17	15	11	6	6
WEIZEN	29	-	2	3	4	9	11
GERSTE	12	1	-	-	3	2	6
HAFER	6	-	-	-	-	1	5
MAIS	63	8	17	15	11	6	6
ÄHREN- GETREIDE	47	1	2	3	7	12	22

Bei der ergänzenden Prüfung des Wachstums auf den beiden Selektivnährböden, Violet-Red-Bile-Agar und Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar, von denen der eine der speziellen Erfassung von Enterobacteriaceae und der andere von Pseudomonas/Aeromonas-Keimen mit gelbem Pigment dienen sollte, wurden im Vergleich zu den mit Plate-Count-Agar ermittelten Gesamtbakteriengehalten recht unterschiedliche Keimzahlen festgestellt, worüber die Tabelle 9 nähere Angaben macht.

Nur bei 29 von den 63 insgesamt untersuchten Maisproben (= 46 %) entwickelten sich auf Violet-Red-Bile-Agar Kolonien. Die Untersuchung des Ährengetreides dagegen ergab auf diesem Agar mit nur einer Ausnahme stets Wachstum. Bei dieser Ausnahme handelte es sich um eine Gerstenprobe, die als einzige nach dem Züchtungsergebnis auf Plate-Count-Agar überhaupt keine Gelbkeime aufwies. Der Mittelwert der Keimzahlen auf VRB-Agar lag bei Mais fast eine Zehnerpotenz unter der auf PC-Agar ermittelten Gesamtkeimzahl, beim Ährengetreide wiederum lagen sie höher

und die Durchschnittswerte kamen der Gesamtkeimzahl recht nahe (s. Tab. 9). Auf GSP-Agar wurden allgemein weniger Kolonien als auf VRB-Agar gezählt. Eine Gegenüberstellung der Mittelwerte der Keimzahlen von Mais, Weizen, Gerste und Hafer ergab hierbei im Vergleich zu den Mittelwerten der Gesamtkeimzahl ziemlich einheitlich eine Abweichung von über einer Zehnerpotenz/g (s. Tab. 9).

Tabelle 9: Qualitatives und quantitatives Untersuchungsergebnis der Überprüfung des Wachstums von Bakterien aus Mais und Ährengetreide auf Selektivnährböden zum Nachweis von Enterobacteriaceae und Keimen der Gattungen Pseudomonas und Aeromonas (Keimzahl/g)

Getreideart und Anzahl der Proben insgesamt	PC-Agar Gesamtkeimzahl Mittelwert (Extremwerte)	VRB-Agar		GSP-Agar	
		Zahl der Proben mit Wachstum	Keimzahl Mittelwert (Extremwerte)	Zahl der Proben mit Wachstum	Keimzahl Mittelwert (Extremwerte)
MAIS 1974/75	38	13	2,7 (2,0 - 4,2)	5	2,2 (2,0 - 2,9)
1976	25	16	3,7 (2,3 - 5,5)	11	3,1 (2,0 - 5,0)
MAIS	63	29	3,2 (2,0 - 5,5)	16	2,8 (2,0 - 5,0)
WEIZEN	29	29	4,5 (2,5 - 6,5)	27	3,8 (2,0 - 5,9)
GERSTE	12	11	5,1 (3,2 - 6,3)	11	5,0 (3,8 - 5,9)
HAFER	6	6	6,4 (6,1 - 7,3)	6	5,6 (4,2 - 7,0)

3.2.1.3 Anteil fett-, casein- und stärkeabbauender Keime an der Bakterienflora von Cerealien

Die Überprüfung des zahlenmäßigen Anteils zur Fett-, Casein- und Stärkespaltung befähigter Arten der Bakterienflora von Mais und Ährengetreide ließ nach dem Vorkommen bei den vier unterschiedlichen Getreidearten eine Abhängigkeit von der Art des Getreides nicht erkennen. Die Tabelle 10 gibt die Mittelwerte mit den jeweiligen Extremwerten der Keimzahlen, die von den auf diesen Spezialnährböden wachsenden Keimen ermittelt wurden, wieder und gibt zugleich den prozentualen Anteil der sich positiv verhaltenden Keime an der Gesamtkeimzahl an. Es wurden dabei die Einzelergebnisse in Bezug auf die Prozente etwas zusammengefaßt, dabei aber immerhin eine Aufteilung auf zehn Gruppen vorgenommen.

Allgemein waren die Keime hauptsächlich zur Fettspaltung befähigt und prozentual in weitaus geringerem Umfang zur Casein- und Stärkespaltung in der Lage. Bei 86 der 110 untersuchten Proben (= 78,2 %) bauten über 80 % der nachgewiesenen Keime den Reaktionskörper Glycerin-Tributyrat ab, bei 71 dieser Proben (= 64,6 %) zeigten sogar mehr als 90 % der Keime diese Eigenschaft und bei keiner Probe lag der Anteil derartiger Keime unter 10 %.

Umgekehrt verhielt es sich mit der Befähigung zur Casein- und Stärkehydrolyse. Bei der Mehrzahl der Proben (72,9 bzw. 76,4 %) lagen die Werte für caseinabbauende Bakterien zwischen 0 und 30 %, für stärke-spaltende Bakterien zwischen 0 und 20 %.

Die größere Streuung im prozentualen Vorkommen fett-, casein- und stärke-spaltender Keime beim Mais im Vergleich zum Ährengetreide dürfte auf die ungleich höhere Zahl untersuchter Proben zurückzuführen sein (Tab. 10). Eine Beziehung zwischen Erntejahr, Gesamtkeimzahl, Anteil an Gelbkeimen und jeweiligem Anteil an Fett-, Casein- und Stärkespaltern ließ sich dabei nicht herstellen. Die Maisproben mit niedrigem Anteil an Fettspaltern wiesen sowohl hohe als auch niedrige Gesamt-

keimzahlen, sowie hohe und niedrige Gelbkeimanteile auf und stammten aus verschiedenen Erntejahren. Auch die beiden Proben Gerste mit niedrigem Gehalt an Fettspaltern wichen ansonsten nicht nennenswert von den übrigen Gerstenproben ab. Desgleichen ergaben sich bei den, bezüglich ihres Casein- und Stärkespalter-Anteils vom Durchschnitt abweichenden Mais- und Getreideproben keine Anhaltspunkte für eine Korrelation zur Gesamtkeimzahl oder zum Anteil der Gelbkeime.

Es darf allerdings nicht unerwähnt bleiben, daß die nach dem Wachstum auf Tributyrin-, Calcium-Caseinat- und Stärke-Agar ermittelten Gesamtkeimzahlen in mehr oder minder großem Ausmaß von dem Ergebnis der Keimzählung auf Plate-Count-Agar abwichen (bei Tributyrin-Agar $\log_{10} < 0,2$ bis $0,4$, bei Stärke-Agar $\log_{10} < 0,1$ bis $0,2$ und bei Calcium-Caseinat-Agar $\log_{10} \leq 0,1$ als bei Plate-Count-Agar; vgl. Tab. 7). Bestimmte Keimarten wurden damit, da sie nicht zur Entwicklung kamen, nicht erfaßt und konnten bei den Angaben des prozentualen Anteils von Fett-, Casein- und Stärkespaltern demgemäß nicht berücksichtigt werden, so daß diese Ergebnisse außerdem nur relativ und nicht absolut verwertbar sind. Grundsätzlich waren mit Calcium-Caseinat-Agar höhere Keimzahlen zu ermitteln als mit Tributyrin- und Stärke-Agar. Da sich Abweichungen von dem Plate-Count-Agar-Keimzählungsergebnis bei allen vier Getreidearten in sehr übereinstimmender Weise ergaben, weist dies darauf hin, daß bei Mais, Weizen, Gerste und Hafer Keime mit bestimmten Wachstumsansprüchen gleichermaßen vorhanden sein müssen, die bei Verwendung von Spezialnährböden zur Erfassung spezieller Merkmale einem Nachweis entgehen.

Berücksichtigt man bei einer Gegenüberstellung bei Mais und Ährengetreide nur jene Proben, bei denen Fett-, Casein- und Stärkespalter mehr als 30 % ausmachten, waren entsprechend der Zahl insgesamt untersuchter Proben in Mais und Ährengetreide annähernd gleich häufig fett- und caseinabbauende Bakterien anzutreffen, während sich hinsichtlich stärkehydrolysierender Bakterien ein Unterschied ergab. Höhere Prozentsätze

stärkespaltender Keime traten beim Mais ungleich häufiger auf als bei Ährengetreide, nämlich bei 23 von insgesamt 63 untersuchten Proben Mais und nur 2 von insgesamt 47 untersuchten Proben Ährengetreide (s. Tab. 10). Zugleich ist Stärkespaltung vor allem eine Fähigkeit von Xanthomonasarten.

Tabelle 10: Anteil in Cerealien nachweisbarer fett-, casein- und stärkehaltender Bakterien (pro Gramm)

Nährboden	Getreideart und Anzahl d. Proben insgesamt	Keimzahl Mittelwert (Extremwerte)	Zahl der Proben mit im gleichen Bereich liegenden prozentualen Anteil von Keimen mit entsprechenden Fähigkeiten											
			0-10 %	10-20 %	20-30 %	30-40 %	40-50 %	50-60 %	60-70 %	70-80 %	80-90 %	90-100 %		
Tributyrin-Agar	MAIS	3, 6 (2, 0 - 8, 4)	-	-	5	1	5	2	3	3	7	37		
	WEIZEN	4, 6 (2, 8 - 6, 4)	-	-	-	-	-	-	-	3	6	20		
	GERSTE	5, 8 (4, 3 - 7, 4)	-	1	-	1	-	-	-	-	2	8		
	HAFER	6, 5 (6, 0 - 7, 2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6		
Calcium-Caseinat-Agar	MAIS	3, 9 (2, 3 - 8, 9)	23	13	9	5	7	2	-	4	-	-		
	WEIZEN	4, 9 (3, 6 - 6, 5)	12	7	1	3	2	-	2	-	-	2		
	GERSTE	6, 0 (4, 5 - 7, 6)	3	4	2	1	-	-	-	1	-	1		
	HAFER	6, 6 (6, 2 - 7, 0)	5	-	1	-	-	-	-	-	-	-		
Stärke-Agar	MAIS	3, 8 (2, 3 - 8, 9)	32	7	1	7	4	4	5	-	3	-		
	WEIZEN	4, 8 (2, 9 - 6, 3)	24	3	1	1	-	-	-	-	-	-		
	GERSTE	5, 9 (4, 4 - 7, 6)	8	4	-	-	-	-	-	-	-	-		
	HAFER	6, 6 (6, 0 - 7, 3)	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

3.2.2 Ergebnisse der Bestimmung der systematischen Zugehörigkeit der aus Cerealien isolierten, gelb pigmentierten Bakterien

3.2.2.1 Anzahl der untersuchten Stämme in Abhängigkeit des Nachweises in den einzelnen Proben

Von 206 zur näheren Charakterisierung aus den insgesamt 110 untersuchten Proben von Cerealien isolierten, gelbes Pigment bildenden Stämmen waren 161 (= 78,2 %) als gramnegative Stäbchenbakterien anzusprechen und 45 (= 21,8 %) erwiesen sich als zu den grampositiven Kokken gehörig. Die Tabelle 11 gibt eine Übersicht, wieviele der Stämme jeweils aus den verschiedenen Proben je nach Getreideart und unter Berücksichtigung des Erntejahres isoliert wurden.

Tabelle 11: Herkunft der zur weiteren Differenzierung isolierten gelb pigmentierten Keime

Untersuchungsmaterial mit Angabe von Erntejahr und Zahl der Proben			Anzahl der isolierten Stämme	
			gramnegative Stäbchenbakterien	grampositive Kokken
MAIS	1974:	28	15	15
	1975:	10	5	9
	<u>1976:</u>	<u>25</u>	<u>29</u>	<u>11</u>
	Ges.:	63	49	35
WEIZEN	1974:	3	6	1
	1975:	21	57	2
	<u>1976:</u>	<u>5</u>	<u>12</u>	<u>1</u>
	Ges.:	29	75	4
GERSTE	1975:	10	19	4
	<u>1976:</u>	<u>2</u>	<u>4</u>	<u>0</u>
	Ges.:	12	23	4
HAFER	1975:	4	9	0
	<u>1976:</u>	<u>2</u>	<u>5</u>	<u>2</u>
	Ges.:	6	14	2
Total :		110	161	45

Gemäß den, bei der Keimgehaltsbestimmung getroffenen Feststellungen des Vorkommens von gelb pigmentierten Keimen (vgl. 3.2.1.2), stammt die Mehrzahl, sofern es sich um gramnegative Stäbchenbakterien handelt, aus den Proben von Weizen, Gerste und Hafer. Aus den 63 Maisproben (= 57,3 % des gesamten Untersuchungsmaterials) wurden nur 49 Stämme gramnegativer Stäbchenbakterien isoliert, da sie im Mais allgemein nicht entsprechend dem Vorkommen in Ährengetreide vertreten waren. Die Ausbeute an gelb pigmentierten, grampositiven Kokken war dagegen beim Ährengetreide geringer. Lediglich 10 von 45 Vertretern gelb pigmentierter Kugelbakterien (= 22,2 %) waren aus Weizen, Gerste und Hafer isoliert worden (Abb. 3).

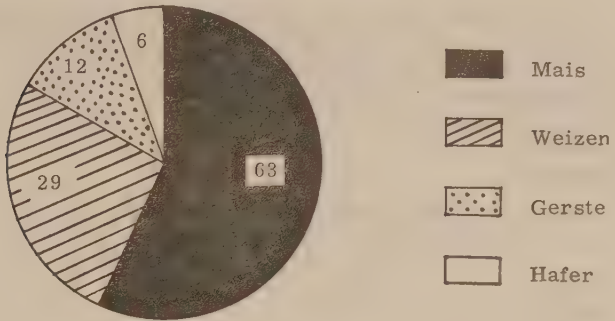
Somit ergaben sich Unterschiede zwischen Mais und Ährengetreide nicht nur in der Häufigkeit des Vorkommens von gelb pigmentierten Bakterien, sondern auch in Bezug auf die Zugehörigkeit zu den Stäbchenbakterien oder Kokken traten beträchtliche Abweichungen auf (Tab. 12).

Während nur in 46 der 63 Maisproben (= 73 %) gelb pigmentierte Keime feststellbar waren, hatten 46 der 47 Proben Ährengetreide (= 97,9 %) derartige Bakterien aufzuweisen. Beim Mais waren in der gleichen Zahl von Proben (29 von 63 = 46 %) jeweils Stäbchenbakterien bzw. Kokken nachweisbar. Beim Ährengetreide traten die Stäbchenbakterien stärker hervor, so daß aus 44 Proben (= 93,6 %) Stämme gramnegativer Stäbchenbakterien isoliert werden konnten, während nur in 10 Proben (= 21,3 %) Kokken, die gelbe Kolonien bildeten, zu finden waren, die in die Untersuchung einbezogen werden konnten (Tab. 12, unten).

Bei einem Vergleich der Häufigkeit, mit welcher gelb pigmentierte Keime bei Weizen, Gerste und Hafer vorkamen, ergeben sich keine eklatanten Unterschiede (Tab. 12, Mitte).

Die Gegenüberstellung der Ergebnisse von Mais unter Berücksichtigung der Erntezeit, läßt auf eine Abnahme der gelb pigmentierten Bakterien in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer schließen. Die Proben des Ern-

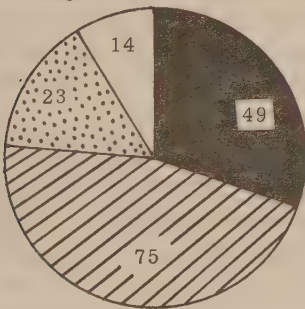
Zusammensetzung des Untersuchungsmaterials
mit Angabe der jeweiligen Anzahl von Proben



Zahlenmäßige Verteilung der isolierten Stämme auf dieses Untersuchungs-
material nach ihrer Zugehörigkeit zu

a) gramnegativen Stäbchenbakterien

b) grampositiven Kokken



Insgesamt: 161 Stämme



Insgesamt: 45 Stämme

Abb. 3: Angaben zur Herkunft der isolierten gelb pigmentierten, gram-negativen Stäbchenbakterien und grampositiven Kokken unter Bezugnahme auf ihr Vorkommen im gesamten Untersuchungsmaterial der vier Getreidearten

Tabelle 12: Vorkommen gelb pigmentierter Bakterien in dem untersuchten Mais und Ährengetreide und deren Zugehörigkeit zu Stäbchenbakterien und Kokken

Getreideart und Anzahl der Proben insgesamt	Häufigkeit des Nachweises nach Anzahl der Proben					
	Insgesamt		Stäbchenbakterien		Kokken	
			pos.	neg.	pos.	neg.
MAIS						
1974/75 38	26	12	13	25	19	19
1976 25	20	5	16	9	10	15
MAIS 63	46	17	29	34	29	34
WEIZEN 29	29		28	1	4	25
GERSTE 12	11	1	10	2	3	9
HAFER 6	6		6		2	4
MAIS 63	46	17	29	34	29	34
ÄHREN- GETREIDE 47	46	1	44	3	10	37
Total in %	83,6	16,4	66,4	33,6	35,5	64,5

tejahres 1976 wiesen zu 80 % Gelbkeime auf. In den Proben der Erntejahre 1974/75 waren sie nur zu etwa 2/3 vertreten und zwar wurden hauptsächlich weniger häufig Stäbchenbakterien nachgewiesen, während ein Nachweis grampositiver Kokken mit gelbem Pigment bei längerer Lagerungsdauer sogar häufiger gelang (Tab. 12, oben).

Daraus resultiert auch, daß die Anzahl der aus dem Untersuchungsmaterial isolierten Stämme gramnegativer Stäbchenbakterien im Vergleich zu den Kokken beim Mais nicht wie beim Ährengetreide divergiert und anteilmäßig sogar unter derjenigen von Weizen, Gerste und Hafer liegt, obwohl Maisproben in größerer Zahl als Proben von Ährengetreide untersucht wurden (Abb. 4 und 5).

Unabhängig von der Provenienz entfallen bei den Proben der Erntejahre 1974/75 auf 10 Stämme von Stäbchenbakterien 12 Stämme von Kokken; bei den Proben des Erntejahres 1976 entfallen auf 10 Stämme von Stäbchenbakterien nur 4 Stämme von Kokken (Abb. 4).

Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse aller vier Getreidearten in Abb. 5 bestätigt die Dominanz im Vorkommen von gramnegativen Stäbchenbakterien bei Weizen, Gerste und Hafer und die Abweichung von diesen Verhältnissen beim Mais allgemein, nicht nur in Bezug auf die Lagerungsdauer.

Die insgesamt aus dem Untersuchungsmaterial isolierten 161 Stämme gelb pigmentierter Stäbchenbakterien stammten, wie aus Tabelle 12 hervorgeht, aus 29 Mais-, 28 Weizen-, 10 Gersten- und den 6 Haferproben. Dies entspricht einer Gesamtzahl von 73 von 110 untersuchten Mustern.

Dabei wurden aus diesen Proben maximal fünf verschiedene Stämme gelb pigmentierter Stäbchenbakterien isoliert. Darüber gibt im einzelnen die Abb. 6 Auskunft. Dabei fällt wiederum der prozentual hohe Anteil von Maisproben auf, die überhaupt keine gelb pigmentierten, gramnegativen Stäbchenbakterien aufgewiesen hatten und zwar bei den länger gelagerten Proben in größerem Umfang als bei den Mustern des Erntejahres 1976. Darüber hinaus kann dieser Abbildung entnommen werden, daß beim Mais maximal drei, sich nach dem Wachstum auf den Nährböden voneinander unterscheidende Gelbkeime angetroffen werden konnten. Diesem gegenüber spiegelt die Aufstellung über die Verhältnisse beim Ährengetreide den geringen Prozentsatz negativer Proben wider und zeigt zugleich an, daß aus diesem Material sogar bis zu fünf verschiedene Vertreter von gelb pigmentierten, gramnegativen Stäbchenbakterien nebeneinander in einer Probe vorkamen.

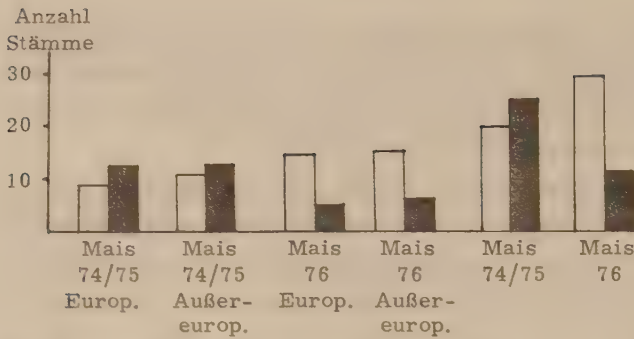


Abb. 4: Häufigkeit der Isolierung gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien und grampositiver Kokken aus Mais unter Berücksichtigung von Erntejahr und Herkunft

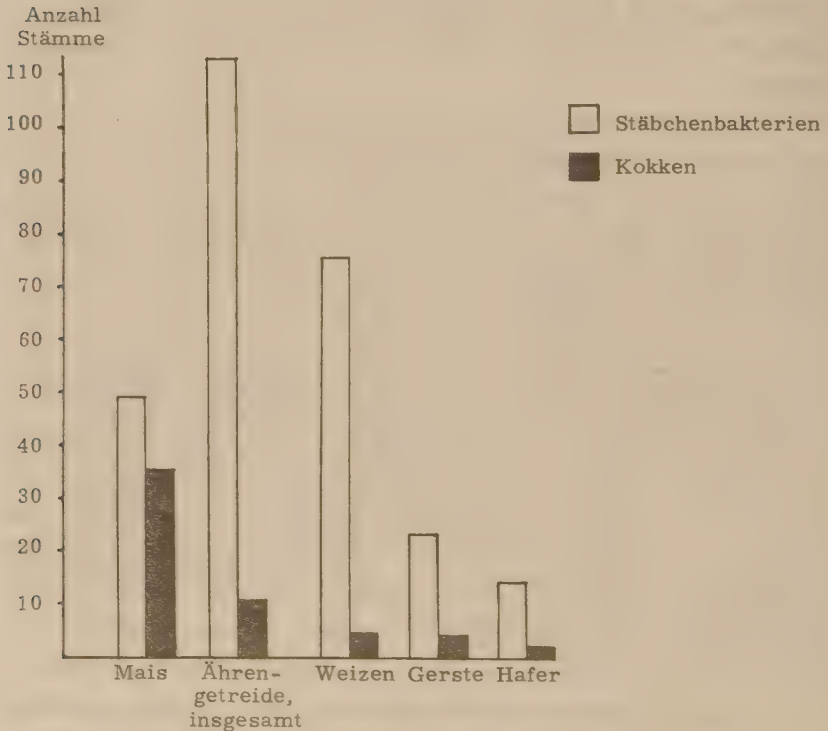


Abb. 5: Gegenüberstellung der Anzahl aus Mais und Ährengetreide isolierter, gelb pigmentierter Stämme von Stäbchenbakterien und Kokken

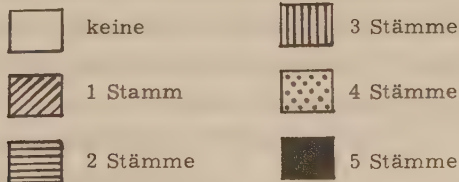
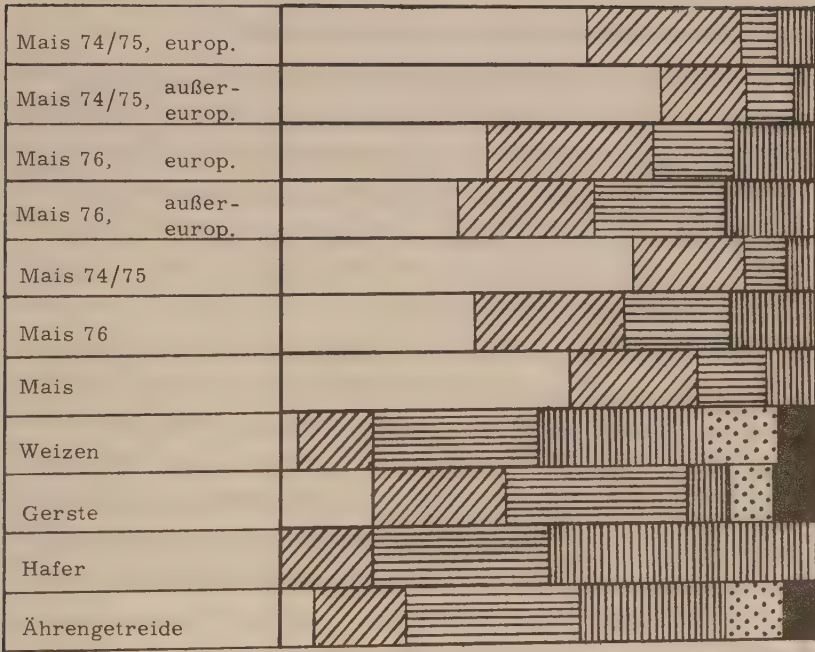


Abb. 6: Prozentuale Aufschlüsselung des Untersuchungsmaterials nach dem Auftreten von gelb pigmentierten, gramnegativen Stäbchenbakterien und der Zahl der jeweils aus den Proben isolierten Stämme

3.2.2.2 Einteilung der Stämme nach den Resultaten der Prüfung morphologischer und physiologischer Merkmale

Sowohl bei den Kokken als auch bei den Stäbchenbakterien gab es hinsichtlich Größe, Form und Oberflächenbeschaffenheit der Kolonien keine nennenswerten Unterschiede. Die Kolonien der Kokken waren alle deckfarben und zeichneten sich durch eine cremige Konsistenz aus, während sich die Mehrzahl der Stäbchenbakterien durch ein Wachstum in transparenten Kolonien zu erkennen gaben. Von den insgesamt 172 untersuchten Stämmen gramnegativer Stäbchenbakterien (außer den 161 aus Cerealien 11 Referenzstämmen) wichen nur 11 Stämme aus Cerealien und 2 der vergleichend mitgeprüften Referenzstämmen von diesem Erscheinungsbild ab, indem sie von leicht cremiger Konsistenz waren und weniger transparente Kolonien als die anderen Stämme bildeten. Nur einer, der ATCC-Stamm *Cytophaga johnsonae*, unterschied sich im Aussehen seiner Kolonien deutlich von den anderen Stämmen: die Kolonien waren nicht rund und deutlich abgegrenzt, sondern bildeten fingerförmige Ausläufer und konfluieren.

Bei der Beurteilung nach der Art der Pigmentierung ergab sich eine größere Variationsbreite. Während die Kokken vorwiegend Kolonien mit orangefarbenem Pigment entwickelten, herrschten bei den Stäbchen gelbe Farbtöne vor. Im einzelnen traten folgende Unterschiede in der Pigmentierung auf, nämlich bei Kokken

	Leuchtend orange	7 Stämme
	Hellorange	25 Stämme
	Cremerorange	11 Stämme
	Zitronengelb	2 Stämme
und bei Stäbchenbakterien	Goldgelb	127 Stämme (5 ATCC-Stämme)
	Strohgelb	36 Stämme (4 ATCC-Stämme)
	Zitronengelb	6 Stämme (2 ATCC-Stämme)
	Orange	3 Stämme

Das mikroskopische Bild der im Objektträgerausstrich als grampositive Kokken identifizierten Stämme war recht einförmig, weder in der Größe der Zellen, noch in ihrer Lage zueinander gab es wesentliche Unterschiede. Sie konnten alle den Haufenkokken zugeordnet werden.

Dem mikroskopischen Bild nach variierten die gramnegativen Stäbchenbakterien dagegen, hinsichtlich der Zellgröße und -form, beträchtlich. Unter den Stämmen des gesamten Untersuchungsmaterials waren, angefangen von kurzen, plumpen, kokkoiden Zellen bis zu langen, schlanken Zellen, alle Formen vertreten. Es handelte sich dabei zum überwiegenden Teil um gerade, einzeln liegende Stäbchen, weniger gebogene und geknickte Formen; Kettenbildung kam äußerst selten vor.

Im mikroskopischen Präparat sowie in der Kultur zeigte der ATCC-Stamm *Cytophaga johnsonae* ein ganz charakteristisches Aussehen: Es handelte sich um lange, dünne Filamente, wobei oft mehrere hintereinanderhingen und so fadenförmige Gebilde entstanden, die ineinander verschlungen waren und den Eindruck eines Fadengeflechtes vermittelten.

Die Ergebnisse der einzelnen, zur Überprüfung der physiologischen Eigenschaften ausgewählten Tests sind in der Tabelle 13 für die Kokken und in Tabelle 14 für die Stäbchenbakterien zusammengefaßt.

Eine vergleichende Betrachtung der hierin aufgeführten Resultate von Kokken und Stäbchenbakterien bietet sich im besonderen hinsichtlich des Verhaltens der Stämme gegenüber Antibiotika sowie in Bezug auf das Fett-, Casein- und Stärkespaltungsvermögen dieser beiden Gruppen gelb pigmentierter Bakterien an.

Dabei fällt nach dem Ergebnis der Antibiotika-Sensibilitätsprüfungen die allgemein hohe Resistenzquote der gramnegativen Stäbchenbakterien gegenüber der Mehrzahl der getesteten Stoffe auf, während die Kokken gegenüber fast allen geprüften Antibiotika empfindlich reagierten (Abb. 7). Eine einzige Ausnahme machte bei den Stäbchenbakterien die Ansprechbarkeit der Stämme gegenüber Polymyxin B mit 88,2 %, gefolgt von einer, im Vergleich zu den anderen Antibiotika prozentual geringeren

Resistenz gegenüber Erythromycin und Ampicillin. Bei den Kokken war lediglich das Novobiocin in geringerem Umfang wirksam als die anderen Antibiotika. Bei der Auswahl der geprüften Stoffe wurde davon ausgegangen, was bisher bereits über die Empfindlichkeit bzw. Resistenz von Umweltbakterien bekannt ist (van DIJCK und van de VOORDE, 1976). Hinsichtlich des Abbaus von Fett, Casein und Stärke ergaben sich Unterschiede nur bei der Verwertung von Stärke. Während 70,2 % der Stäbchenbakterien Stärke hydrolysierten, waren nur 8,9 % der Kokken dazu in der Lage (Abb. 8)

Bei den Kokken (Tab. 13) fällt weiterhin auf, daß alle Stämme Katalase bildeten. Nach dem Ergebnis des Oxidations/Fermentations-Tests zeigte sich, daß der überwiegende Teil der Stämme sowohl zum oxidativen als auch zum fermentativen Glucoseabbau in der Lage war, nur zwei Stämme verhielten sich inert. Die Prüfung auf Merkmale, die als Pathogenitätskriterien bei Haufenkokken gelten, ergab, daß keiner der Stämme Hammelblut hämolysierte, drei Stämme koagulierten Kaninchenplasma, die gleiche Anzahl vermochte Mannit anaerob zu spalten und neun der 45 geprüften Stämme (= 20 %) bildeten DNase.

Die Stäbchenbakterien verhielten sich ebenfalls bei der Prüfung auf Katalase einheitlich positiv. Nach dem Oxidations/Fermentations-Test erwies sich der größte Teil der Stämme (82,6 %; vgl. Tab. 14) zum fermentativen Stoffwechsel befähigt. Die übrigen Stämme zerfielen in zwei etwa gleich große Gruppen, wovon die eine Glucose nur oxidativ abbaute (9,9 %), die andere keinerlei Reaktion zeigte (7,5 %).

Auffallend wenige Stämme bildeten Oxidase (3,1 %), Lezithinase (0,6 %) oder H_2S (0,6 %). Hämolysen-Bildung war ebenfalls selten nachweisbar (1,2 %). Dagegen erwiesen sich die Stämme in großer Zahl zur Gelatineverflüssigung (79,5 %), Nitratreduktion (73,3 %) und zum Wachstum in KCN-Bouillon befähigt (91,3 %).

Tabelle 13: Ergebnisse der Charakterisierung der grampositiven
Haufenkokken

Merkmal	Anzahl d. Stämme mit pos. Reaktion	% -Anteil
Pigmentbildung		
Leuchtend orange	7	15,6 %
Hellorange	25	55,6 %
Cremeorange	11	24,4 %
Zitronengelb	2	4,4 %
Katalase-Bildung	45	100,0 %
Oxidations/Fermentations-Test		
O/F	29	64,5 %
O/-	14	31,1 %
-/-	2	4,4 %
Fettspaltung	44	97,8 %
Caseinspaltung	12	26,7 %
Stärkespaltung	4	8,9 %
Antibiotika-Sensibilität		
Resistent gegenüber		
Bacitracin	3	6,7 %
Penicillin	-	-
Carbenicillin	-	-
Gentamicin	-	-
Polymyxin B	4	8,9 %
Novobiocin	12	26,7 %
Neomycin	-	-
Hämolyse-Bildung	-	-
Koagulase-Bildung	3	6,7 %
DNase-Bildung	9	20,0 %
Anaerobe Mannitspaltung	3	6,7 %

Oxidations/Fermentations-Test:

O/F = oxidativer und fermentativer Glucoseabbau
O/- = nur oxidativer Glucoseabbau
-/- = inert

Tabelle 14: Ergebnisse der Charakterisierung der gramnegativen Stäbchenbakterien (ohne ATCC-Stämme)

Merkmal	Anzahl d. Stämme mit pos. Reaktion	% -Anteil
Pigmentbildung: Goldgelb	122	75,8 %
Strohgelb	32	19,9 %
Zitronengelb	4	2,5 %
Orange	3	1,8 %
Wachstum auf: VRB-Agar	133	82,6 %
GSP-Agar	137	85,1 %
Katalase-Bildung	161	100,0 %
Oxidase-Bildung	5	3,1 %
Oxidations/Fermentations-Test:		
O/F	133	82,6 %
O/-	16	9,9 %
-/-	12	7,5 %
Lactoseabbau	45	28,0 %
Fettspaltung	153	95,0 %
Caseinspaltung	47	29,1 %
Gelatineverflüssigung	128	79,5 %
Stärkespaltung	113	70,2 %
DNase-Bildung	32	19,9 %
Lezithinase-Bildung	1	0,6 %
Nitratreduktion	118	73,3 %
KCN-Resistenz	147	91,3 %
H ₂ S-Bildung	1	0,6 %
Indol-Bildung	16	9,9 %
Hämolyse-Bildung	2	1,2 %
Antibiotika-Sensibilität		
Resistent gegenüber		
Bacitracin	143	88,8 %
Penicillin	138	85,7 %
Erythromycin	71	44,1 %
Ampicillin	86	53,4 %
Polymyxin B	19	11,8 %
Novobiocin	139	86,3 %
Virginiamycin	139	86,3 %

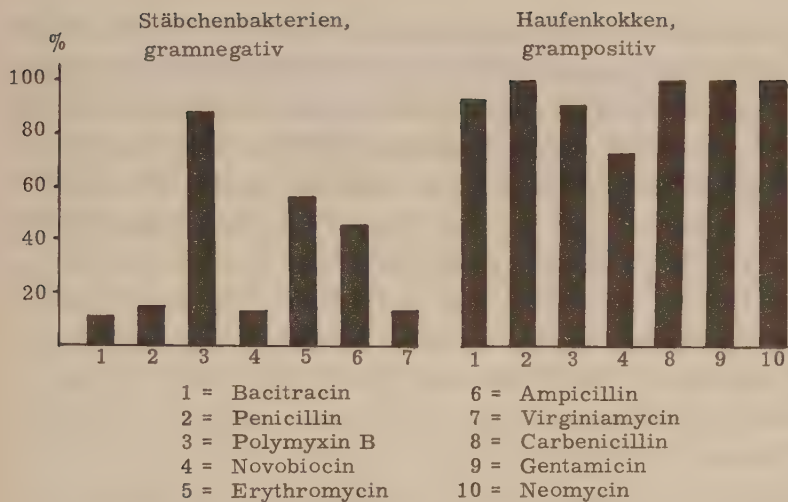


Abb. 7: Antibiotika-Sensibilität der gelb pigmentierten Bakterienstämme (jeweiliger Anteil sensibler Stämme in Prozent)

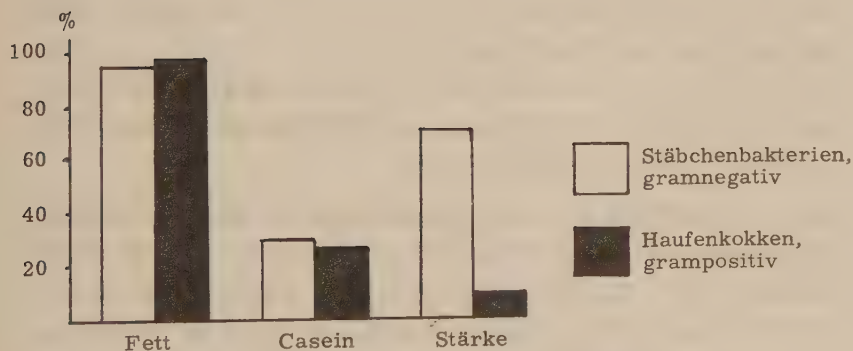


Abb. 8: Prozentualer Anteil der Stämme mit der Befähigung zur Fett-, Casein- und Stärkespaltung

Bei einer Gegenüberstellung der Eigenschaften der Stäbchenbakterien unter Berücksichtigung ihres Verhaltens im Oxidations/Fermentations-Test (O/F oder O/- bzw. -/-) ist bemerkenswert, daß die kleinere Gruppe mit oxidativem Stoffwechsel (28 Stämme) in den Merkmalen eine weitaus größere Vielfalt zeigt, als die größere Gruppe mit fermentativem Stoffwechsel (133 Stämme). Während die erstgenannten sich in Bezug auf Katalase-Reaktion und Fettspaltung einheitlich verhalten (Tab. 15), zeigen die anderen in sechs Reaktionen Übereinstimmung, nämlich: positives Testergebnis bei der Prüfung auf Katalase-Bildung und fermentativen Glucoseabbau unter Säurebildung, negatives Testergebnis bei der Prüfung auf Cytochromoxidase-, Lezithinase-, H_2S - und Hämolyse-Bildung (Tab. 16).

Auch nach dem morphologischen Erscheinungsbild verhielt sich diese Gruppe relativ einheitlich. 85 % der Stämme bildeten goldgelbe Kolonien, nur wenige Stämme fielen durch strohgelbe bzw. zitronengelbe Pigmentierung auf, kein Stamm entwickelte Kolonien von oranger Farbe. Nahezu alle Stämme erwiesen sich als resistent gegenüber Penicillin, Bacitracin, Novobiocin und Virginiamycin und wuchsen in KCN-Bouillon, auf VRB- und GSP-Agar, spalteten Fett, verflüssigten Gelatine und reduzierten Nitrat (Tab. 16).

Das Verhalten der Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel zeigt dagegen an, daß es sich hierbei um eine sehr heterogene Gruppe gelb pigmentierter Keime handelt (Tab. 15).

Bei der Überprüfung der Entwicklungsfähigkeit der gelb pigmentierten, gramnegativen Stäbchenbakterien auf den Selektivnährböden für die Erfassung von *Pseudomonas* und *Aeromonas* spp. (GSP-Agar) einerseits und *Enterobacteriaceae* (VRB-Agar) andererseits zeigten 140 Stämme (133 aus Cerealien und 7 Referenzstämme) von 172 insgesamt geprüften Stämmen gutes Wachstum auf VRB-Agar. Auf GSP-Agar ließen sich 147 Stämme (137 aus Cerealien und 10 ATCC-Stämme) anzüchten.

Alle Stämme, die auf VRB-Agar wuchsen, entwickelten sich auch auf GSP-Agar. Sieben Stämme gelangten auf GSP-Agar, aber nicht auf VRB-Agar zur Entwicklung. Die Stämme, die entweder auf beiden Nährböden, oder nur auf VRB-Agar kein Wachstum zeigten, gehörten in keinem Falle dem am häufigsten festgestellten Pigmentationstyp (goldgelb) an.

Tabelle 15: Merkmalshäufigkeit bei den gramnegativen Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel (ohne ATCC-Stämme)

Merkmal	Anzahl d. Stämme mit pos. Reaktion	% -Anteil
Pigmentbildung: Goldgelb	9	32,1 %
Strohgelb	14	50,0 %
Zitronengelb	2	7,1 %
Orange	3	10,7 %
Wachstum auf: VRB-Agar	8	28,6 %
GSP-Agar	12	42,9 %
Katalase-Bildung	28	100,0 %
Oxidase-Bildung	5	17,9 %
Glucose-Verwertung		
mit Säurebildung	16	57,1 %
ohne Säurebildung	12	42,9 %
Lactoseabbau	-	-
Fettspaltung	28	100,0 %
Caseinspaltung	15	53,8 %
Gelatineverflüssigung	6	21,4 %
Stärkespaltung	23	82,1 %
DNase-Bildung	12	42,9 %
Lezithinase-Bildung	1	3,5 %
Nitratreduktion	3	10,7 %
KCN-Resistenz	15	53,8 %
H ₂ S-Bildung	1	3,5 %
Indol-Bildung	2	7,1 %
Hämolyse-Bildung	2	7,1 %
Antibiotika-Sensibilität		
Resistent gegenüber		
Bacitracin	12	42,9 %
Penicillin	9	32,1 %
Erythromycin	6	21,4 %
Ampicillin	10	35,7 %
Polymyxin B	4	14,3 %
Novobiocin	11	39,3 %
Virginiamycin	8	28,6 %

Tabelle 16: Merkmalshäufigkeit bei den gramnegativen Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel (ohne ATCC-Stämme)

Merkmal	Anzahl d. Stämme mit pos. Reaktion	%-Anteil
Pigmentbildung: Goldgelb	113	85,0 %
Strohgelf	18	13,5 %
Zitronengelb	2	1,5 %
Orange	-	-
Wachstum auf: VRB-Agar	125	94,0 %
GSP-Agar	125	94,0 %
Katalase-Bildung	133	100,0 %
Oxidase-Bildung	-	-
Glucose-Verwertung: oxidativ und fermentativ mit Säurebildung	133	100,0 %
Lactoseabbau	45	33,8 %
Fettspaltung	125	94,0 %
Caseinspaltung	32	24,1 %
Gelatineverflüssigung	122	91,7 %
Stärkespaltung	90	67,7 %
DNase-Bildung	20	15,0 %
Lecithinase-Bildung	-	-
Nitratreduktion	115	86,5 %
KCN-Resistenz	132	99,3 %
H ₂ S-Bildung	-	-
Indol-Bildung	14	10,5 %
Hämolyse-Bildung	-	-
Antibiotika-Sensibilität		
Resistent gegenüber		
Bacitracin	131	98,5 %
Penicillin	129	97,0 %
Erythromycin	65	48,9 %
Ampicillin	76	57,1 %
Polymyxin B	15	11,3 %
Novobiocin	128	96,2 %
Virginiamycin	131	98,5 %

3.2.2.3 Übersicht über die Herkunft der Stämme mit oxidativem und fermentativem Stoffwechsel

Da die grobe Unterscheidung der aus Cerealien isolierten, gelb pigmentierten Keime nach ihrer Zugehörigkeit zu Kokken oder Stäbchenbakterien, einen Unterschied im Vorkommen in Mais und Ährengetreide, zum Teil auch abhängig von der Lagerungszeit, hatte erkennen lassen, erhebt sich nun, nach der weiteren Charakterisierung der Stämme, insbesondere nach den bei ihnen nachgewiesenen physiologischen Merkmalen, die Frage, ob sich desweiteren eine Beziehung zur Herkunft herstellen läßt. Es wurde dabei für zweckmäßig erachtet, vom unterschiedlichen Stoffwechsel der Gelbkeime auszugehen.

In Tabelle 17 sind die untersuchten Stämme entsprechend ihrer Isolierung aus Proben von Mais verschiedener Erntejahre und Provenienz, von Mais insgesamt und aus Weizen, Gerste und Hafer sowie von Ährengetreide insgesamt, aufgeführt. Sowohl bei den Kokken als auch bei den Stäbchenbakterien waren mehr Stämme mit fermentativem als mit oxidativem Stoffwechsel gefunden worden (s. S. 57). Die Stämme der 16 Kokken mit oxidativem Stoffwechsel stammten je zur Hälfte aus Mais und Ährengetreide. Die 29 Stämme der Kokken mit fermentativem Stoffwechsel wurden dagegen vornehmlich (93,1 %) aus Mais isoliert, nur zwei von ihnen waren in Ährengetreide angetroffen worden.

16 der 28 Stämme von Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel waren aus Mais isoliert worden. Das besagt zugleich, daß über die Hälfte dieser Stämme in nur einer der untersuchten Getreidearten vorkamen, und sie machten überhaupt ein Drittel der Stämme gramnegativer Stäbchenbakterien aus, die insgesamt aus Mais isoliert wurden.

Es zeichnet sich auch hierbei wieder eine gewisse Abhängigkeit von der Lagerungszeit der Probe ab. 11 der 20 aus den 74/75er Maismustern isolierten Stämme von Stäbchenbakterien erwiesen sich als strikt oxidativ, während sich unter den 29 in den 76er Maisproben nachgewiesenen Stämmen von Gelbkeimen dagegen nur 5 mit einem derartigen Verhalten befanden.

Tabelle 17: Zahlenmäßige Aufschlüsselung der aus Cerealien isolierten und näher charakterisierten, gelb pigmentierten Stämme nach Art ihres Stoffwechsels und ihrer Herkunft

Getreideart und Anzahl der Proben	Zahl der iso- lierten Stämme, insgesamt	Stäbchenbakterien insgesamt		Kokken insgesamt	
		Oxidat. Stoffw.	Ferm. Stoffw.	Oxidat. Stoffw.	Ferm. Stoffw.
<u>Mais 74/75</u>					
Europ. 14	21	5 <u>9</u>	4	4 <u>12</u>	8
Außereur. 24	23	6 <u>11</u>	5	- <u>12</u>	12
<u>Mais 76</u>					
Europ. 13	19	- <u>14</u>	14	1 <u>5</u>	4
Außereur. 12	21	5 <u>15</u>	10	3 <u>6</u>	3
Mais 74/75 38	44	11 <u>20</u>	9	4 <u>24</u>	20
Mais 76 25	40	5 <u>29</u>	24	4 <u>11</u>	7
MAIS 63	84	16 <u>49</u>	33	8 <u>35</u>	27
WEIZEN 29	79	9 <u>75</u>	66	3 <u>4</u>	1
GERSTE 12	27	3 <u>23</u>	20	4 <u>4</u>	-
HAFER 6	16	- <u>14</u>	14	1 <u>2</u>	1
MAIS 63	84	16 <u>49</u>	33	8 <u>35</u>	27
ÄHREN- GETREIDE 47	122	12 <u>112</u>	100	8 <u>10</u>	2
Insgesamt: 110	206	28 <u>161</u>	133	16 <u>45</u>	29

Auf 12 Stämme mit oxidativem Stoffwechsel entfallen bei Ährengetreide 100 Stämme mit fermentativem Stoffwechsel. Dies kennzeichnet die Überlegenheit der letzteren beim Vorkommen in Ährengetreide im Vergleich zum Mais.

Um die Ergebnisse anschaulicher wiederzugeben, als dies in Tabellen möglich ist, wurde unter Zugrundelegung der folgenden Befunde eine graphische Darstellung (Abb. 9) angefertigt:

1. Bei den 206 insgesamt isolierten Stämmen handelte es sich zu 78,2 % um gramnegative Stäbchenbakterien und zu 21,8 % um grampositive Kokken.
2. 64,4 % der Kokken und 82,6 % der Stäbchenbakterien waren zum fermentativen Stoffwechsel befähigt.
3. 35,6 % der Kokken und 17,4 % der Stäbchenbakterien zeigten oxidativen Stoffwechsel.
4. Die Kokken-Stämme wurden zu 77,8 % in Mais gefunden, wobei der überwiegende Teil Glucose aerob und anaerob verwertete. 22,2 % der Stämme hatte das Ährengetreide aufgewiesen, von denen der überwiegende Teil Glucose nur oxidativ abbaute.

Geht man vom Stoffwechsel der Kokken-Stämme aus, so fällt auf, daß die Stämme mit oxidativem Stoffwechsel je zu 50 % aus Mais bzw. Ährengetreide stammten, während die Stämme mit fermentativen Eigenschaften dagegen hauptsächlich, nämlich zu 93,1 % in Mais angetroffen wurden.

5. Die Stämme der Stäbchenbakterien wurden zu 30,4 % aus Mais isoliert, davon zeichneten sich etwa zwei Drittel durch die Befähigung zum oxidativen und fermentativen Stoffwechsel aus, ungefähr ein Drittel war nur zu oxidativem Metabolismus in der Lage. 69,6 % der Stämme der Stäbchenbakterien kamen im Ährengetreide vor, davon verhielten sich fast 90 % oxidativ und fermentativ, der Rest nur oxidativ.

Stellt man die Frage nach der Herkunft der Stämme unter Berück-

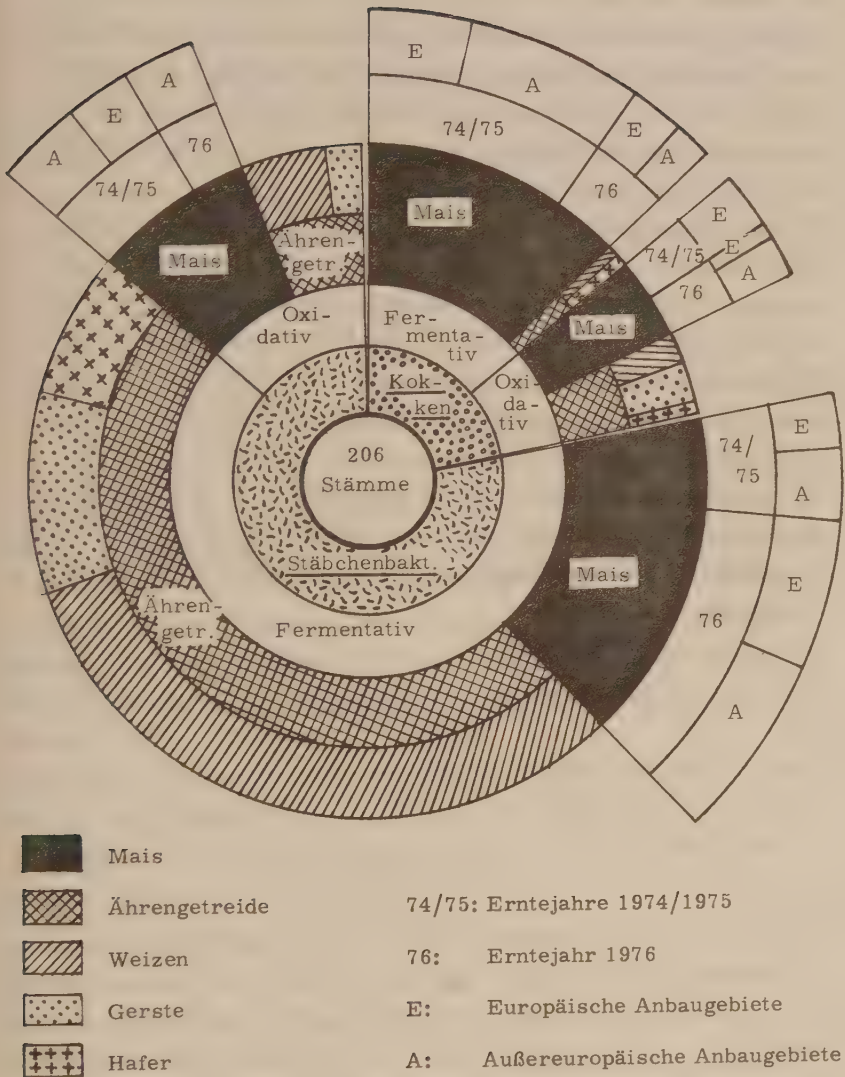


Abb. 9: Verteilung der gelb pigmentierten Stäbchenbakterien und Kokken mit oxidativem und fermentativem Stoffwechsel auf das gesamte Untersuchungsmaterial

sichtigung dieser speziellen Stoffwechseleigenschaften, so läßt sich darüber aussagen, daß Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel zu 57,1 % von der Oberfläche der Maiskörner und zu 42,9 % von den Getreidekörnern isoliert wurden. Die Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel stammten dagegen nur zu 24,8 % von Mais und zu 75,2 % vom Ährengetreide.

6. Im übrigen gibt die Abbildung 9 noch Auskunft über den Anteil der drei Getreidearten Weizen, Gerste und Hafer am Ährengetreide insgesamt, und beim Mais wird Bezug genommen auf Erntezeit und Provenienz. Die Zahl der Stämme steht bei den drei Getreidearten in direkter Beziehung zur jeweiligen Anzahl untersuchter Proben. Beim Mais tritt dagegen deutlich der vergleichsweise höhere Gehalt der 74/75er Proben an Kokken mit fermentativem Stoffwechsel hervor, bei den 76er Proben jedoch an Stäbchenbakterien mit entsprechenden Eigenschaften. Die Stämme der Stäbchenbakterien aus den Proben der Erntejahre 1974/75 zeigten größtenteils Befähigung zum oxidativen Stoffwechsel.

3.2.2.4 Differenzierung und systematische Zuordnung der Kokken

Aufgrund der Eigenschaften aerobes Wachstum und Bildung von Katalase, worin sich alle isolierten Haufenkokken gleich verhielten, konnten diese Stämme der Familie Micrococcaceae zugeordnet werden. Bei der systematischen Zuordnung zu den beiden in Frage kommenden Gattungen *Micrococcus* und *Staphylococcus* wurde nach dem in Abbildung 2 dargestellten Differenzierungsschema vorgegangen. Das Ergebnis der Identifizierung ist in Tabelle 18 wiedergegeben.

Nach der Art des Stoffwechsels gaben sich 16 Stämme als der Gattung *Micrococcus* zugehörig zu erkennen, wobei 14 Vertreter Glucose oxidativ unter Säurebildung abbauen konnten, bei 2 Stämmen war keine Säuerung des Mediums festzustellen. Die 14 erstgenannten Stämme, in Tabelle 18 als Gruppe I aufgeführt, wurden der Spezies *Micrococcus varians* zugeordnet, obwohl sie sich im zweiten, diese Art kennzeichnenden Merkmal, der Resistenz gegenüber Novobiocin, nicht einheitlich verhielten. 11 Stämme waren entsprechend der Beschreibung (vgl. Abb. 2) resistent, 3 Stämme jedoch wurden im Wachstum gehemmt. Die beiden letztgenannten Stämme entsprachen in ihrem Verhalten gegenüber Glucose der Beschreibung von *Micrococcus luteus* und wurden dieser Art zugeordnet (Gruppe II in Tab. 18).

Eine weitere Untergliederung innerhalb der Gruppen ließ sich treffen anhand von Merkmalskombinationen, die sich ergaben aus Differenzen im Koagulase- und DNase-Bildungsvermögen sowie hinsichtlich der Verwertung von Fett, Casein und Stärke.

Die weiteren 29 Stämme konnten, weil sie Glucose sowohl oxidativ als auch fermentativ spalteten, der Gattung *Staphylococcus* zugeordnet werden. Die Abgrenzung der Saprophyten von der als Krankheitserreger auftretenden Spezies *Staphylococcus aureus* erfolgte mit Hilfe der Überprüfung der Koagulase-Bildung, DNase-Bildung und anaeroben Mannitspaltung. Bei *S. aureus* fallen alle drei Tests positiv aus, nicht aber bei *S. epidermidis* und *S. saprophyticus*.

Anhand dieser Merkmale war nur einer der 29 Stämme als Staphylococcus aureus zu identifizieren (Untergruppe III a). Vier weitere Stämme bildeten zwar keine Plasmakoagulase, waren aber entweder zur DNase-Bildung und zum anaeroben Mannitabbau in der Lage (2 Stämme, Untergruppe III b), oder nur der DNase-Test fiel positiv aus (2 Stämme, Untergruppe III c). Diese vier Stämme entsprachen keiner der im Differenzierungsschema (Abb. 2) aufgeführten Spezies und sind deshalb in Tabelle 18 als nicht weiter differenzierbare Vertreter der Gattung Staphylococcus aufgeführt.

24 Stämme verhielten sich in allen drei Tests negativ. Sie erwiesen sich zusätzlich als sensibel gegenüber Novobiocin und wurden, weil sie damit der für Staphylococcus epidermidis zutreffenden Beschreibung entsprachen (vgl. Abb. 2) dieser Art zugeordnet (Untergruppe III d). In ihrem Verhalten gegenüber Fett, Casein und Stärke unterschieden sich die Stämme, wobei der Merkmalskombination M 1 (s. III d, Tab. 18) 22 Stämme zufielen, der Kombination M 2 dagegen nur zwei Stämme.

Das Merkmal "Hämolyse-Bildung" blieb bei der Aufstellung der Merkmalskombinationen unberücksichtigt, da weder unter den Staphylokokken noch unter den Mikrokokken ein positiv reagierender Stamm zu finden war und sich somit alle Stämme diesbezüglich einheitlich verhielten. Ebenso war das Verhalten gegenüber den getesteten Antibiotika, mit Ausnahme der Novobiocin-Resistenz bzw. -Sensibilität, diagnostisch nicht verwertbar. Außer zwei Stämmen waren alle untersuchten, der Gattung Staphylococcus zuzuordnenden Stämme gegen sämtliche getesteten Antibiotika sensibel. Einer dieser Stämme aus der Untergruppe III d/M 2 wurde durch Polymyxin B nicht im Wachstum gehemmt, der als S. aureus identifizierte Stamm (Untergruppe III a) erwies sich gegenüber Polymyxin B sowie Bacitracin als resistent.

Auch die Micrococcus-Stämme zeigten außer Unterschieden in der Empfindlichkeit gegenüber Novobiocin, gegenüber den übrigen geteste-

Tabelle 18: Gegenüberstellung der verschiedenen bei den Kokken nachgewiesenen Merkmalskombinationen (= M) und deren Zuordnung zu bekannten Spezies

Einteilung in Gruppen und Untergruppen	Anzahl Stämme	Zuordnung
GRUPPE I: O/F-Test: O/- =====	14	Micrococcus varians
I a: <u>Novobiocin-resistent</u> M 1: Koagulase -, DNase -, Fett -, Casein -, Stärke -; M 2: Koagulase -, DNase -, Fett +, Casein -, Stärke -; M 3: Koagulase -, DNase -, Fett +, Casein +, Stärke -; M 4: Koagulase -, DNase +, Fett +, Casein -, Stärke -;	 1 5 3 2	
I b: <u>Novobiocin-sensibel</u> M 1: Koagulase -, DNase -, Fett +, Casein +, Stärke +; M 2: Koagulase -, DNase -, Fett +, Casein +, Stärke -; M 3: Koagulase +, DNase +, Fett +, Casein +, Stärke -;	 1 1 1	
GRUPPE II: O/F-Test: -/- =====	2	Micrococcus luteus
M 1: Novobiocin-resistent, Koagulase -, DNase -, Fett +, Casein +, Stärke -; M 2: Novobiocin-sensibel, Koagulase +, DNase +, Fett +, Casein +, Stärke +;	 1 1	
GRUPPE III: O/F-Test: O/F =====	29	
III a: Koagulase +, DNase +, Mannit + Fett +, Casein +, Stärke +;	1	Staphylococcus aureus
III b: Koagulase -, DNase +, Mannit + Fett +, Casein v, Stärke +;	2	Staphylococcus spp.
III c: Koagulase -, DNase +, Mannit - Fett +, Casein -, Stärke -;	2	(nicht weiter differenzierbar)
III d: Koagulase -, DNase -, Mannit - M 1: Fett +, Casein -, Stärke -; M 2: Fett +, Casein +, Stärke -;	 22 2	Staphylococcus epidermidis

ten Antibiotika ein recht einheitliches Bild. Ein Stamm (Untergruppe I a/M 2) war gegenüber Bacitracin, ein Stamm (Untergruppe I a/M 4) gegen Bacitracin und Polymyxin B unempfindlich, die übrigen Stämme wurden durch alle anderen geprüften Antibiotika im Wachstum gehemmt.

3.2.2.5 Differenzierung und systematische Zuordnung der Stäbchenbakterien

Nach dem Differenzierungsschema in Abbildung 1 ließen sich die Stämme zunächst nach der Art ihres Stoffwechsels beim Glucoseabbau in zwei ungleich große Gruppen einteilen. Der ersten Gruppe mit oxidativem Stoffwechsel gehören nur 28 Stämme an, wovon 16 zur Säuerung des Oxidations/Fermentations-Mediums in dem für Sauerstoff zugänglichen Röhrchen führten, 12 Stämme verhielten sich inert gegenüber dem angebotenen Zucker. 133 Stämme dagegen vermochten Glucose sowohl oxidativ als auch fermentativ zu spalten und bilden die zweite Gruppe. Die 11 vergleichend geprüften Referenzstämme verhielten sich entsprechend den Angaben in Tabelle 19 und 20.

Die Einbeziehung dieser elf bekannten Stämme der American Type Culture Collection (vgl. S. 29) in die Untersuchungen, sollte eine zusätzliche Möglichkeit der Absicherung der systematischen Zuordnung nach den Beschreibungen in BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1974) geben.

Bei der weiteren Differenzierung der Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel wurde die zuvor erwähnte Fähigkeit zur Säurebildung im Oxidations-Röhrchen herangezogen und die diesbezüglich positiven Stämme den negativen gegenübergestellt (Tab. 19).

Alle Stämme mit oxidativem Stoffwechsel waren in der Lage, Katalase zu bilden, Fett abzubauen und verwerteten Lactose nicht. 16 von diesen Stämmen (Gruppe II) verhielten sich außerdem bei der Prüfung auf H_2S - und Lezithinase-Bildung einheitlich negativ, desgleichen 4 Referenzstämme. In den übrigen getesteten Eigenschaften verhielten sich die Stämme außerordentlich variabel.

Drei Stämme hämolysierten Hammelblut, zwei davon deutlich, darunter der ATCC-Stamm *Flavobacterium breve*, einer nur schwach. Alle drei Stämme waren ansonsten durch die in Tabelle 19 unter der Merkmalskombination M 1 beschriebenen Eigenschaften charakterisiert.

Nur ein Stamm war zur Lezithinase-Bildung fähig, er wurde entsprechend seiner sonstigen Merkmale der Gruppe I/M 3 zugeordnet.

Ebenso bildete nur ein Stamm Schwefelwasserstoff, im übrigen entsprach er in den Eigenschaften der Gruppe I/M 2 (Tab. 19).

Bei Berücksichtigung der Art und Intensität der Pigmentbildung und der Entwicklungsfähigkeit auf den Selektivnährböden VRB- und GSP-Agar ergaben sich, wie bereits erwähnt, keine Übereinstimmungen mit den anderen geprüften Eigenschaften. Nähere Angaben werden dazu in Tabelle 19 nicht gemacht, um aufgrund der großen Heterogenität nicht noch weitere Untergruppierungen vornehmen zu müssen.

Aufgrund der Fähigkeit aller Stämme zur Katalase-Bildung, konnte die Zugehörigkeit zur Gattung "Flexibacter" ausgeschlossen werden (vgl. Differenzierungsschema in Abb. 1). Außer der Differenzierung nach der Cytochromoxidase-Bildung bot sich von den übrigen getesteten Eigenschaften lediglich noch das Verhalten gegenüber Antibiotika allgemein als Unterscheidungskriterium an. Die anderen Merkmale erwiesen sich als ungeeignet, da kaum mehr als zwei Stämme Übereinstimmung zeigten, hinsichtlich DNase- und Indol-Bildung, Fett-, Casein- und Stärke-spaltung, Gelatineverflüssigung und Nitratreduktion. Diese Untersuchungsergebnisse wurden zwar in der Tabelle 19 mit aufgeführt, wegen der häufigen +/- Reaktionen mußte aber oftmals das Symbol v (= variabel) verwendet werden.

Nach der Oxidase-Bildung und Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika ergaben sich für Gruppe I drei Merkmalskombinationen und für Gruppe II vier Untergruppen. Die Stämme wurden als resistent eingestuft, wenn drei und mehr der sieben geprüften Stoffe keine Wachstumshemmung ergeben hatten. Erwies sich ein Stamm gegenüber mehr als vier der sieben Antibiotika als empfindlich, so wurde er als sensibel angesehen. Eine Unterscheidung nach den einzelnen Stoffen konnte nicht vorgenommen werden, weil die Testergebnisse diesbezüglich recht uneinheitlich ausfielen. Es fällt dabei auf, daß die, zum Vergleich mit in die Untersuchung einbezogenen fünf Referenzstämme mit oxidativem Stoffwechsel, aber un-

Tabelle 19: Gegenüberstellung der verschiedenen bei den Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel nachgewiesenen Merkmalskombinationen (= M), einschließlich der ATCC-Stämme

Einteilung nach Gruppen und Untergruppen		Anzahl der Stämme (ATCC-Stämme)
GRUPPE I: O/F-Test: O/- =====		17 (1)
Katalase +, Lactose -, Fett +;		
M 1:	Oxidase +, antibiotikaresistent, DNase v, Indol v, Nitrat v, Casein v, Gelatine v, Stärke v;	3 (Ps. mendocina)
M 2:	Oxidase -, antibiotikaresistent, DNase v, Indol -, Nitrat v, Casein v, Gelatine v, Stärke v;	6
M 3:	Oxidase -, antibiotikasensibel, DNase v, Indol -, Nitrat -, Casein v, Gelatine -, Stärke +;	8
GRUPPE II: O/F-Test: -/- =====		16 (4)
Katalase +, Lactose -, Fett +, H ₂ S -, Lezithinase -;		
M 1:	Oxidase +, antibiotikasensibel, DNase v, Indol -, Nitrat v, Casein +, Gelatine v, Stärke v;	4 (Flavob. breve)
M 2:	Oxidase +, antibiotikaresistent, DNase -, Indol -, Nitrat -, Casein -, Gelatine -, Stärke -;	1 (Ps. palleroni)
M 3:	Oxidase -, antibiotikasensibel, DNase v, Indol v, Nitrat -, Casein v, Gelatine v, Stärke v;	9 (Flavob. devorans)
M 4:	Oxidase -, antibiotikaresistent, DNase -, Indol -, Nitrat v, Casein v, Gelatine -, Stärke v;	2 (A. paradoxus)

terschiedlicher Artzugehörigkeit, bei fünf verschiedenen Untergruppen einzuordnen waren (s. Tab. 19). Die beiden Stämme von *Pseudomonas*-Arten zeichnen sich durch eine positive Oxidase-Reaktion und Antibiotikaresistenz aus, unterscheiden sich aber in der Art des Glucoseabbaus. Eine entsprechende Merkmalskombination war lediglich bei zwei der Stämme aus Cerealien ebenfalls nachweisbar. Der Stamm von *Alcaligenes paradoxus* erwies sich als antibiotikaresistent, im Cytochromoxidase- und Oxidations/Fermentations-Test verhielt er sich jedoch negativ wie nur noch einer der zu differenzierenden Stämme aus Cerealien. Die beiden Stämme der *Flavobacterium*-Arten zeigten im Cytochromoxidase-Test Abweichungen voneinander, stimmten aber in der Art des Glucoseabbaus und der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika überein. Außerdem bildeten sie DNase. Gleichartig verhielten sich 11 Stämme aus dem Untersuchungsmaterial.

14 der insgesamt 33 Stämme mit oxidativem Stoffwechsel aus Cerealien wiesen dagegen Merkmale auf, die keinem der getesteten Referenzstämme entsprachen. Es handelt sich um die Kombinationen Oxidase-negativ/antibiotikaresistent (6 Stämme) und Oxidase-negativ/antibiotikasensibel (8 Stämme), jeweils in Verbindung mit Glucoseabbau unter Säurebildung (s. Tab. 19).

Vergleicht man die von den ATCC-Stämmen vorliegenden Untersuchungsergebnisse mit den in Tabelle 2 zusammengestellten Eigenschaften der für die systematische Zuordnung in Frage kommenden Gattungen mit oxidativem Stoffwechsel (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*), so liegt eine weitgehende Übereinstimmung mit diesen Angaben vor. Lediglich der als *Alcaligenes paradoxus* von der American Type Culture Collection erhaltene Stamm zeigte bei der Cytochromoxidase-Prüfung ein von der Gattungsbeschreibung abweichendes Ergebnis, indem der Test negativ ausfiel. Aus der Gattung *Xanthomonas* stand leider kein Referenzstamm zur Verfügung, so daß hier keine Vergleiche angestellt werden konnten und Angaben über die Merkmale, die sich nach der hier vorliegenden Untersuchung als eventuell verwertbare Differenzierungskriterien

anbieten, wie z. B. Verhalten gegenüber Antibiotika oder DNase-Bildung liegen in der Literatur nicht vor.

Die Frage nach der systematischen Zugehörigkeit aus Cerealien isolierter, gelb pigmentierter Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel muß deshalb vorläufig noch offen bleiben. Allerdings scheint eine Begrenzung einer Zuordnung auf vier in Frage kommende Gattungen gerechtfertigt, nämlich *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium* und *Alcaligenes*.

Die 139 Stämme mit fermentativem Stoffwechsel (133 aus Cerealien, 6 Referenzstämme) bilden, im Vergleich zu den Stämmen mit oxidativem Stoffwechsel, mit wenigen Ausnahmen dagegen eine recht einheitliche Gruppe (Tab. 20).

Hauptsächlich der Stamm *Cytophaga johnsonae* stellt in vielerlei Hinsicht eine solche Ausnahme dar. Schon bei der morphologischen Charakterisierung zeigten sich deutliche Abweichungen des Erscheinungsbildes dieses Stammes von dem der anderen Stämme (s. S. 55). Bei der Charakterisierung nach physiologischen Merkmalen ergaben sich noch einige weitere Besonderheiten, die diesem Stamm eine Sonderstellung zuweisen. Er reagierte als einziger Katalase-negativ, zeigte eine starke Sensibilität gegenüber Novobiocin und Virginiamycin und war bei fehlender Fähigkeit zur Nitratreduktion und zum Lactoseabbau DNase-positiv und wies damit Merkmale auf, die in dieser Kombination bei keinem anderen Stamm vorkamen. Er wurde deshalb gesondert behandelt und ist bei der in Tabelle 20 vorgenommenen Unterteilung als Vertreter einer eigenen Gruppe (Gruppe II) aufgeführt.

Die übrigen 138 Stämme, einschließlich der übrigen Referenzstämme (Gruppe I) wiesen eine Reihe gemeinsamer Merkmale auf: sie waren alle Katalase-positiv und Oxidase-negativ, bildeten weder Schwefelwasserstoff noch Lezithinase und waren nicht hämolytisch. Ebenso zeigte sich im Antibiotogramm, von wenigen Ausnahmen abgesehen, eine weitgehende Übereinstimmung.

134 von 138 Stämmen erwiesen sich als resistent gegenüber Bacitracin und Virginiamycin. Durch Penicillin wurde nur einer dieser Stämme aus der Untergruppe I d/M 3 gehemmt, gegenüber Novobiocin zeigten sich zwei dieser Stämme (Untergruppe I a/M 4) nur teilresistent, was hier als sensibel gewertet wurde. Hinsichtlich Ampicillin, Polymyxin B und Erythromycin verhielten sie sich dagegen sehr abweichend, wobei sich keine Gesetzmäßigkeiten im Auftreten mit anderen Merkmalen erkennen ließen.

Eine Ausnahme machten die vier Vertreter der Untergruppe I b/M 3, die durch zitronengelbes Pigment auffielen und auf GSP- und VRB-Agar nicht wuchsen, indem sich zwei Stämme gegenüber allen geprüften Antibiotika sensibel zeigten. Die beiden übrigen Stämme waren gegenüber Bacitracin und Virginiamycin resistent, aber auch gegenüber Ampicillin und Polymyxin B, zeigten zugleich jedoch Sensibilität gegenüber Penicillin und Novobiocin, eine Merkmalskombination, die in dieser Form sonst bei diesen Stämmen mit fermentativem Stoffwechsel nicht angetroffen wurde.

Nach dem Differenzierungsschema in Abbildung 1 ergibt sich für die in Gruppe I aufgeführten Stämme eine Eingrenzung der für eine Zugehörigkeit in Betracht kommenden Gattungen, denn die Merkmalskombination Katalase-positiv/Oxidase-negativ schließt eine Zuordnung zu den Gattungen *Aeromonas* und *Vibrio* aus. Ebenso erscheint die Zugehörigkeit zur Gattung *Cytophaga* unwahrscheinlich, vergleicht man hierzu die Angaben in der Literatur und die Resultate der eigenen Untersuchungen mit dem Referenzstamm *Cytophaga johnsonae*. Die Beschreibung der Gattungsmerkmale ist zwar recht unvollständig, aber es bietet die zuvor beschriebene Sonderstellung des Referenzstammes nach den, im Vergleich zu den anderen geprüften Stämmen ermittelten morphologischen und physiologischen Kriterien genügend Anhaltspunkte dafür.

Es verbleiben somit die drei zur Familie der Enterobacteriaceae gehörigen Gattungen *Escherichia*, *Enterobacter* und *Erwinia* für die systematische Zuordnung der aus Getreide isolierten, gramnegativen

Tabelle 20: Gegenüberstellung der verschiedenen bei den Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel nachgewiesenen Merkmalskombinationen (= M), einschließlich der ATCC-Stämme

Einteilung nach Gruppen und Untergruppen		Anzahl der Stämme (ATCC-Stämme)
GRUPPE I:	Katalase +, Oxidase -, =====	
	H ₂ S -, Lezithinase -, Hämolyse -, Resistent gegenüber Bacitracin, Virgini- niamycin. Penicillin G u. Novobiocin	138 (5)
I a:	Nitrat +, Lactose +, Indol v =====	38 (3)
	Strohgelb - Goldgelb, VRB +, GSP +;	
M 1:	Indol +, KCN +, DNase +, Fett +, Casein +, Gelatine +, Stärke +;	5 (Erw. uredovora)
M 2:	Indol +, KCN +, DNase -, Fett v, Casein -, Gelatine v, Stärke v;	6 (E. aurescens, E. adecarboxylata)
M 3:	Indol -, KCN v, DNase +, Fett v, Casein v, Gelatine +, Stärke v;	5
M 4:	Indol -, KCN +, DNase -, Fett -, Casein -, Gelatine +, Stärke -; (2 Stämme gegen Novobiocin teilresistent)	3
M 5:	Indol -, KCN +, DNase -, Fett +, Casein -, Gelatine +, Stärke +;	12
M 6:	Indol -, KCN +, DNase -, Fett +, Casein -, Gelatine v, Stärke v;	7
I b:	Nitrat +, Lactose -, Indol - =====	81 (-)
M 1:	Goldgelb, VRB +, GSP +, KCN +, DNase -, Fett +, Gelatine +;	
a:	Casein +, Stärke +;	6
b:	Casein +, Stärke -;	6
c:	Casein -, Stärke +;	44
d:	Casein -, Stärke -;	19
M 2:	Strohgelb, VRB +, GSP +, KCN v, DNase -, Fett v, Gelatine v, Casein -, Stärke v;	2
M 3:	Zitronengelb, VRB -, GSP -, KCN v, DNase +, Fett v, Gelatine v, Casein v, Stärke +; (Abweichendes Antibiotogramm)	4

Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel.

Gemäß der bestehenden Abgrenzungsschwierigkeiten der Arten dieser Gattungen gegeneinander, wurde in der folgenden Aufstellung (Tab. 20) nicht das Ziel der endgültigen Differenzierung der Keime verfolgt, sondern stattdessen zunächst einmal eine Einteilung nach häufig übereinstimmenden Merkmalen sowie eines Vergleiches zwischen den bekannten Arten (ATCC-Stämme) und den noch zu klassifizierenden Stämmen aus Cerealien vorgenommen.

Entsprechend den Ergebnissen der Nitratreduktion, des Lactoseabbaus und der Indol-Bildung entstanden vier Untergruppen (I a - I d).

Ein Stamm, der Nitrat nicht zu reduzieren vermochte, aber nach Pigment, Wachstumsverhalten auf VRB- und GSP-Agar sowie DNase-Bildung und Antibiotogramm den Vertretern der Untergruppe I b/M 3 sehr ähnlich war, wurde diesen ebenfalls hinzugerechnet.

Die anderen Merkmale, einschließlich der morphologischen Eigenschaften, wurden, sofern sie nicht allen Vertretern einer Untergruppe gemeinsam waren, bei den Merkmalskombinationen mitberücksichtigt. Auch hier konnten einige Eigenschaften nur mit dem Symbol v (= variabel) angegeben werden, um nicht eine zu starke Untergliederung vornehmen zu müssen.

Diese Art der Zuordnung nach der Übereinstimmung in bestimmten Merkmalsäußerungen liefert das immerhin bemerkenswerte Ergebnis, daß keiner der vergleichend geprüften Referenzstämmen der Untergruppe I b, mit den Merkmalen Nitratreduktion positiv, Lactoseabbau negativ und Indol-Bildung negativ, zuzuordnen war, in die der überwiegende Teil der Stämme aus Cerealien (81 Stämme = 53,3 %) gehörte. Auch der Untergruppe I c (Nitrat-negativ, Lactose-positiv, Indol-negativ oder -positiv) konnte kein Stamm eines bekannten, gelb pigmentierten Stäbchenbakteriums zugeordnet werden.

Drei der ATCC-Stämme, *Erwinia uredovora* und die beiden *Escherichia*-Stämme sind durch die Eigenschaften Nitratreduktion positiv, Lactoseabbau positiv und Indol-Bildung positiv gekennzeichnet und gehören so

zur Untergruppe I a, die anderen zwei *Erwinia*-Stämme verhielten sich in allen drei Tests negativ und fallen damit in die Untergruppe I d. Die Verwertung einzelner Testergebnisse zur näheren Charakterisierung der Stämme mit noch unbekannter systematischer Zugehörigkeit in Tabelle 20 läßt erkennen, daß die auf den ersten Blick als recht einheitlich erscheinende Gruppe von Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel sich in sehr vielen Eigenschaften recht abweichend voneinander verhält.

Bei nur 11 Stämmen aus Cerealien waren beim überwiegenden Teil der geprüften Eigenschaften Übereinstimmungen mit den ATCC-Stämmen zu verzeichnen. Vier Stämme verhielten sich wie *Erwinia uredovora*, vier weitere Stämme zeigten Ähnlichkeit mit den beiden *Escherichia*-Stämmen, für zwei Stämme ergab sich in den Merkmalen die gleiche Kombination wie für *Erwinia herbicola* und nur ein Stamm entsprach *Erwinia stewartii*. Die übrigen 122 Stämme aus Getreide zeigten sich in mehr oder weniger großem Umfang von den Referenzstämmen verschieden.

Übereinstimmung bestand allerdings in den Merkmalen: fermentativer Stoffwechsel, positive Katalase-Reaktion und negativer Oxidase-Test bei allen Stämmen, wobei es sich um Kriterien handelt, die im allgemeinen für eine Zuordnung zur Familie der Enterobacteriaceae als ausreichend angesehen werden. Bezüglich der weiteren Differenzierungsmöglichkeiten sei noch einmal auf die aus Tabelle 2 hervorgehende Problematik durch unzureichende Charakterisierung und bestehende Merkmalsüberschneidungen hingewiesen. Zum anderen muß hier auch angeführt werden, daß die beiden, von der American Type Culture Collection als *Escherichia* spp. bezogenen Stämme, in ihrem Verhalten in KCN-Bouillon von den Angaben in der Literatur (vgl. Tab. 2) abwichen, indem ihr Wachstum in diesem Medium nicht unterdrückt wurde. Ebenso konnte die für alle drei *Erwinia*-Stämme beschriebene KCN-Empfindlichkeit (LELLIOTT, 1974; vgl. Tab. 2) nur bei *E. stewartii* bestätigt werden, die beiden anderen Stämme entwickelten sich ebenfalls.

4. DISKUSSION

Die Ergebnisse der an insgesamt 110 Proben von Mais, Weizen, Gerste und Hafer durchgeführten Untersuchungen zur Bestimmung des Keimgehaltes dieser Cerealien mit Berücksichtigung des jeweiligen Vorkommens gelb pigmentierter Keime und deren morphologischer und physiologischer Merkmale zur Überprüfung der Identität mit bereits bekannten Arten sowie die ergänzende Feststellung des Anteiles von Bakterien in der Flora mit den im Hinblick auf den Verderb wichtigen Eigenschaften der Fett-, Casein- und Stärkespaltung zeigten deutlich, von den Gesamtkeimzahlen abgesehen, eine weitgehende Übereinstimmung in den Befunden beim Ährengetreide und ein Vorliegen davon abweichender Verhältnisse beim Mais.

Die Beobachtungen anderer Untersucher (DÜGGELI, 1904; SPICHER, 1956; SCHMIDT, 1974), daß nämlich für einzelne Getreidearten charakteristische Keimzahlen zutreffend sind, konnten dabei bestätigt werden. Hafer erwies sich mit einem durchschnittlichen Bakteriengehalt von $\log 6,7$ (= 5 Millionen Keime/g) als die Getreideart mit dem höchsten Keimbesatz, gefolgt von Gerste mit einem Mittelwert von $\log 6,0$ (= 1 Million Keime/g) und Weizen mit $\log 4,9$ (= 80 000 Keime/g). Mais wies mit $\log 4,0$ (= 10 000 Bakterien/g) im Durchschnitt den geringsten Gehalt an Bakterien auf und zeichnete sich damit im Vergleich zu Hafer und Gerste durch relative Keimarmut aus. Die beim Mais feststellbaren Differenzen in den mittleren Keimzahlen bei Berücksichtigung der Lagerungszeit und der Provenienz ließ eine Abhängigkeit der Besiedlung mit Keimen bei dieser Getreideart erkennen: Proben außereuropäischer Herkunft wiesen im Durchschnitt, wenn auch nur geringgradig, höhere Keimzahlen auf als Proben europäischer Herkunft und Proben des Erntejahres 1976 erwiesen sich als keimhaltiger als Proben der Erntejahre 1974/75.

Letzteres stand zugleich auch in Beziehung zu einem unterschiedlichen Vorkommen der gelb pigmentierten Keime. Die Untersuchungen zum Vorkommen dieser gelb pigmentierten Bakterien ergaben, daß eine Reihe von

Maisproben (12,7 %) überhaupt frei von diesen Keimen war, während der Nachweis im Ährengetreide nur bei einer einzigen Probe nicht gelang. Überraschenderweise waren bei den erst kürzere Zeit gelagerten Maisproben weniger häufig mit gelb pigmentierten Kolonien wachsende Keime zu ermitteln (5 von 25 Proben des Erntejahres 1976 negativ) als in länger gelagerten Maisproben (3 von 38 Proben der Erntejahre 1974/75 negativ). Der prozentuale Anteil an der Gesamtkeimzahl beim Nachweis von Bakterien mit gelbem Pigment war ebenfalls nicht von der Lagerungsdauer abhängig. Unterschiede hatten sich hierbei zwischen Mais einerseits und Ährengetreide andererseits ergeben. Bei 22 von 47 Weizen-, Gerste- und Haferproben stellte diese Keimgruppe zwischen 75 und 100 Prozent der Gesamtpopulation, beim Mais traf dies nur für 6 von 63 Proben zu. Mais weist damit nicht nur allgemein einen geringeren Besatz mit Bakterien auf, zugleich sind auch prozentual weniger Gelbkeime als in Ährengetreide anzutreffen.

Die Untersuchung der Keime auf ihre Fähigkeit, Fett, Casein und Stärke zu spalten, ergab dagegen bei Mais und Ährengetreide qualitativ und quantitativ weitgehend übereinstimmende Resultate, wenn auch bei Mais der Prozentsatz an stärke-spaltenden Bakterien bei zwei Drittel der Proben höher als 30 % lag, was in gleichem Umfang für Ährengetreide nicht zutraf. Ein Vergleich des Nährstoffgehaltes von Cerealien mit dem durchschnittlichen Anteil der Bakterien an der Gesamtkeimzahl, die zu einem Abbau dieser Stoffe befähigt waren (s. u.), liefert auch kaum Anhaltspunkte, daß die bei der vorliegenden Untersuchung nachgewiesene Normalflora nennenswert zur Nährwertminderung bzw. zum Verderb von Futtergetreide beiträgt. Zur Hydrolyse von Stärke, dem Hauptinhaltsstoff von Cere-

Durchschnittliche Zusammensetzung von Getreidekörnern (nach BECKER und NEHRING, 1965)		Durchschnittlicher Prozent- anteil an Protein-, Fett- und Stärkespaltern
Protein	7 - 12 %	18,7 %
Fett	1,5 - 5 %	89,4 %
N-freie Extraktstoffe (= vorwiegend Stärke)	60 - 75 %	8,8 %

alien, waren die Keime im Durchschnitt zu einem niedrigen Prozentsatz in der Lage, Fett dagegen, das von den Bakterien hauptsächlich angegriffen wurde, ist in Getreidekörnern wiederum nur in relativ geringen Mengen vorhanden.

Die Untersuchung auf das Vorkommen von Keimen, die entweder den Enterobacteriaceae oder den Gattungen *Pseudomonas* resp. *Aeromonas* zuzuordnen sind, erbrachte ein Ergebnis, das auf den ersten Blick verwirren muß. Bei einer Addition der auf den Selektivnährböden VRB- und GSP-Agar festgestellten Keimzahlen nämlich, ergeben sich Werte, die bei allen Getreidearten weit über der auf Plate-Count-Agar ermittelten Gesamtkeimzahl liegen. Daraus muß geschlossen werden, daß zumindest einer dieser Nährböden keine ausreichende Selektivität besitzt. Aus dem Ergebnis dieser Untersuchung können deshalb keine weiteren Schlußfolgerungen gezogen werden.

Die Isolierung und nähere Charakterisierung der aus dem Untersuchungsmaterial züchtbaren, gelb pigmentierten Bakterienstämme ergab, daß innerhalb der Bakterienflora im wesentlichen drei verschiedene Kategorien anzutreffen sind, nämlich grampositive Haufenkokken, gramnegative Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel und gramnegative Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel. Bei der Abimpfung gelb pigmentierter Kolonien von Plate-Count-Agar waren zwar in geringem Umfang auch Stämme mit anderen Charakteristika gefunden worden. Ihre Anzahl war aber so verschwindend klein (5 Stämme grampositive Stäbchen, 5 Stämme gramlabile Stäbchen), daß sie nicht als repräsentativ für die Bakterienflora von Cerealien angesehen werden können und gegenüber den Arten mit den oben genannten Eigenschaften vernachlässigt werden können, zumal nicht auszuschließen ist, daß es sich dabei um sekundäre Kontaminanten handelte.

In der Beteiligung dieser drei Kategorien gelb pigmentierter Bakterienarten an der Zusammensetzung der Flora des Getreides fällt wiederum der zwischen Mais und Ährengetreide bestehende Unterschied auf: Während beim Mais Kokken und Stäbchenbakterien in einem Verhältnis

von 1:1,4 zueinander angetroffen wurden, kamen bei Ährengetreide auf 10 Stämme von Kokken 112 Stämme von Stäbchenbakterien, die aus diesem Material isoliert wurden. Mais wies sowohl Stäbchenbakterien mit fermentativem als auch mit oxidativem Stoffwechsel auf, wobei das Verhältnis (fermentativ : oxidativ) 2:1 betrug. Bei den Kokken zeigten noch mehr Stämme fermentativen Stoffwechsel (Gattung *Staphylococcus*) als oxidativen Stoffwechsel (Gattung *Micrococcus*), so daß hier das Verhältnis sogar 3:1 ausmachte. Beim Ährengetreide schließlich ergab sich eine noch größere Diskrepanz zwischen Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel und solchen mit oxidativem Stoffwechsel (Verhältnis fermentativ:oxidativ = 8:1). Unter den wenigen Kokkenstämmen überwogen dagegen die Stämme mit ausgeprägtem Sauerstoffbedürfnis, die der Gattung *Micrococcus* zuzuordnen sind (Verhältnis *Micrococcus* : *Staphylococcus* = 4:1).

Ein Einfluß der Lagerzeit auf das Vorkommen der Arten mit unterschiedlichen stoffwechselphysiologischen Eigenschaften ließ sich nur beim Mais feststellen durch eine eindeutige zahlenmäßige Abnahme der Stämme mit fermentativem Stoffwechsel gegenüber denjenigen mit oxidativem Stoffwechsel innerhalb der gelb pigmentierten gramnegativen Stäbchenflora bei den länger gelagerten Proben. Hatte sich bei den 1976 geernteten Proben ein Verhältnis von 5:1 zugunsten der Stämme mit fermentativem Stoffwechsel ergeben, so waren es sogar insgesamt mehr Stämme mit oxidativem Stoffwechsel, die in den Proben der Erntejahre 1974/75 nachweisbar waren (Verhältnis 11 : 9). Für die gelb pigmentierten grampositiven Haufenkokken traf das Umgekehrte zu. Beim Erntejahr 1976 wurde ein Verhältnis von 1:2, bei den Erntejahren 1974/75 dagegen ein Verhältnis von 1:5 zwischen Stämmen mit oxidativem im Vergleich zu solchen mit fermentativem Stoffwechsel ermittelt. Dies charakterisiert die Umschichtung, die sich demnach beim Mais innerhalb der, nach dem äußeren Erscheinungsbild anscheinend gleichartigen, gelb pigmentierten Keime während der Lagerung vollzieht.

Die eigenen Untersuchungen bestätigen somit die von SPICHER (1973)

gemachten Angaben, daß die Zahl der "Gelbkeime", worunter er gram-negative Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel versteht, im Laufe der Lagerung stark abnimmt, um schließlich ganz zu verschwinden, jedoch nur teilweise. Beim Mais zeichnete sich eine solche Tendenz ab, nicht aber beim Ährengetreide, denn hier stammten 38 der 47 Proben aus den Ernten von 1974 und 1975 und wiesen, obwohl zum Zeitpunkt der Untersuchung durchschnittlich zwei Jahre vergangen waren, noch eine stattliche Anzahl gelb pigmentierter, gramnegativer Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel verschiedener Art-zugehörigkeit auf, und zwar mitunter bis zu fünf Stämme pro Probe. Auch bei den von THALMANN (1971) durchgeführten Lagerungsversuchen sollen nach 8 Wochen keine "Gelbkeime" mehr nachweisbar gewesen sein und an ihre Stelle waren Mikrokokken bzw. Bazillen getreten. Hierzu ist allerdings zu bemerken, daß es sich bei diesen Studien zur Umschichtung des Keimbesatzes während der Lagerung durch THALMANN (1971) um Mischfutter gehandelt hat. Erfahrungsgemäß macht die maschinelle Aufbereitung von Rohstoffen mit der Zerstörung intakter Pflanzenzellwände diese für Mikroorganismen leichter angreifbar und sorgt auch bei der Durchmahlung für eine gleichmäßige Verteilung aller in das Produkt eingebrachter Keime.

Die Differenzierung der isolierten Stämme gelb pigmentierter Bakterien bis zur Gattung bzw. Art warf bei den Kokken keine großen Probleme auf. 16 der 45 Stämme konnten der Gattung *Micrococcus* zugeordnet werden, und zwar den Arten *M. varians* (14 St.) und *M. luteus* (2 St.). 29 Stämme erwiesen sich als der Gattung *Staphylococcus* zugehörig. Es dominierte *S. epidermidis* (24 St.) gegenüber *S. aureus* (1 St.) und 4 Stämmen, die vorerst keiner bestimmten Art zugeordnet werden konnten (Tab. 18). Dagegen war eine eindeutige Bestimmung der systematischen Zugehörigkeit der gramnegativen Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel nicht einmal bis zur Gattung möglich, obwohl sie hinsichtlich ihrer physiologischen Merkmale in 17 Tests überprüft worden waren. Die Abgrenzung der in Frage kommenden Gattungen (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*,

Flavobacterium, Alcaligenes) ist noch immer im Fluß und teilweise nur mit recht aufwendigen Untersuchungen oder überhaupt nicht möglich. So fanden STARR und STEPHENS (1964), daß das bei Vertretern der Gattung Xanthomonas vorkommende gelbe Pigment ein ganz charakteristisches Karotinoid ist, das bisher bei keinem Stamm anderer Gattungszugehörigkeit gefunden wurde und somit zur Differenzierung geeignet ist. McMEEKIN et al. (1971) weist darauf hin, daß Untersuchungen der Zusammensetzung der Bakterien-DNS (C + G - Gehalt in Mol %) bei der Differenzierung von Flavobakterien weiterhelfen könnte. Außerdem wird von ihnen auch die Empfindlichkeit dieser Bakterien gegenüber UV-Licht als diagnostisch verwertbares Charakteristikum herausgestellt (McMEEKIN, 1977). Die Überprüfung derartiger Kriterien ist allerdings in der Routinediagnostik kaum realisierbar. Die Ansprechbarkeit auf Antibiotika wurde von mehreren Autoren (SHEWAN et al., 1960; DAVIS und PARK, 1962; PARK, 1962) zur Abgrenzung der Gattung Pseudomonas gegenüber anderen Gattungen vorgeschlagen, hat aber dann letztlich bei den neueren Gattungsbeschreibungen (DOUDOROFF und PALLERONI, 1974) gramnegativer Stäbchenbakterien keine Berücksichtigung gefunden. Zieht man die Ergebnisse, die bei der Testung der Referenzstämme erhalten wurden zu Rate, so erscheint eine Zugehörigkeit der gelb pigmentierten Stäbchenbakterien aus Cerealien mit oxidativem Stoffwechsel zur Gattung Flavobacterium oder Xanthomonas als wahrscheinlich, nachdem nur 3 von insgesamt 28 nachgewiesenen Stämmen sich ähnlich den Arten der Gattungen Pseudomonas und Alcaligenes verhielten. Vertreter dieser beiden Gattungen dürften damit nach den eigenen Untersuchungen unter der gelb pigmentierten Bakterienflora der Cerealien keine große Rolle spielen. Eine entsprechende Problematik ergibt sich bei der Differenzierung der gramnegativen Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel. Zwar stellt sich für die Zuordnung der 133 nachgewiesenen Stämme zur Familie der Enterobacteriaceae keine Alternative, die systematische Zugehörigkeit zu den Gattungen dieser Familie aber, für die nach dem derzeitigen

Stand der Systematik Arten innerhalb von drei dieser Gattungen in Frage kommen (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Erwinia*), ließ sich nicht eindeutig verifizieren. Die Gattung *Escherichia* ist allerdings durch folgende Eigenschaften gekennzeichnet (ØRSKOV, 1974): Nitrat-, Lactose- und Indol-positiv, Gelatinase-negativ. Dieses Verhalten zeigten nur drei der Stämme aus Cerealien, was den Schluß zuläßt, daß gelb pigmentierte Vertreter dieses Genus innerhalb der Bakterienflora des Getreides nur selten repräsentiert sind.

Somit stellt sich nurmehr die Frage nach der Zugehörigkeit des überwiegenden Teiles der Stämme zu den Gattungen *Enterobacter* und *Erwinia*. Eine Unterscheidung zwischen beiden Genera wird von einigen Autoren überhaupt nicht getroffen. EWING und FIFE (1972) schlagen stattdessen die Bezeichnung "*Enterobacter agglomerans*" für die Spezies *Erwinia* *bicola* vor, die später auch von ISENBERG et al. (1974) und HAMANN und WEBER (1978) übernommen wurde. Der Beschreibung der Arten ist zu entnehmen, daß die Abgrenzung beider Genera sowohl untereinander als auch gegenüber anderen *Enterobacteriaceae* schwierig, wenn nicht sogar unmöglich ist (JEMMALI, 1968; STARR und MANDEL, 1969; WHITE und STARR, 1971) und nur durch die Kombination einer Vielzahl spezieller Untersuchungen wie Aminosäuren-Decarboxylierung (SEDLAK et al., 1961; BUSSE, 1970), Verwertung von Zuckern und Alkoholen, serologischen Tests und Phagentypisierung (COWAN, 1974) erfolgen kann. Es kann deshalb hier vorerst nur herausgestellt werden, daß es sich wider Erwarten beim überwiegenden Teil der in Cerealien anzutreffenden, gelb pigmentierten, gramnegativen Stäbchenbakterien um *Enterobacteriaceae* und nicht, wie bislang angenommen, um Vertreter der Gattungen *Flavobacterium* und *Xanthomonas* (SPICHER, 1966) handelt.

Diese Feststellung eröffnet zugleich die Frage nach der Bedeutung dieses Erkenntnis. Bei Vertretern der *Enterobakterien* stellt sie sich stets unter dem Aspekt der Gesundheit für Mensch und Tier und die sich daraus eventuell ergebenden Konsequenzen. Insbesondere für die Gattung *Erwinia* bestehen konkrete Hinweise, daß einige dieser Spezies nicht harmlos sind.

Erste Anhaltspunkte dafür fanden schon DRESEL und STICKL (1928), die diese Keimart aus dem Stuhl von Personen mit Typhus-Symptomen isolierten und sie für gelbe, reversible Mutationsformen des Typhusbazillus hielten. Auf die Möglichkeit, daß *Erwinia herbicola*-Stämme unter Stress-Bedingungen zu Weichteilinfektionen, Septikämien und Gehirnabszessen führen können, wird vielfach hingewiesen (ANSORG et al., 1974; BOTTONE und SCHNEIERSON, 1972; MEYERS et al., 1972; SLOTNIK und TULMAN, 1967; von GRAEVENITZ, 1971; WECHSLER et al., 1971). DUTKIEWICZ (1976) konnte von 10 *Erwinia herbicola*-Stämmen, die aus der Luft von Getreidemühlen und aus tierischen und menschlichen Quellen isoliert worden waren, Endotoxin-Präparate mit echten endotoxischen Eigenschaften (Letalität für Mäuse, Fähigkeit zur Erzeugung primärer Entzündungserscheinungen in der Kaninchenhaut und Fähigkeit, die Kaninchenhaut zur lokalen Shwartzman-Reaktion vorzubereiten) gewinnen. Er hält die Spezies *Erwinia herbicola* für eine der wichtigsten potentiellen Quellen für bakterielle Endotoxine, besonders auf Getreidekörnern und in Mehlstaub.

Es dürfte sich deshalb bei der Festlegung bestimmter Keimgehalte für Futtermittel, die beim Nutztier unter konventionellen Bedingungen der Aufzucht und Mast ein Optimum an Leistung erbringen sollen, als zweckmäßig erweisen, den Besatz mit diesen Keimen mit einzukalkulieren. Als Infektionskrankheitserreger sind sie zwar bislang beim Tier noch nicht hervorgetreten. Wegen Gemeinsamkeiten im Zellwandaufbau mit anderen Enterobacteriaceen aber, von denen es schon länger als erwiesen gilt, daß die Lipopolysaccharidproteinkomplexe ihrer Zellen in vivo als Toxine wirken, bedeutet ihre Aufnahme mit dem Futter womöglich die gleiche Belastung für heranwachsende Tiere wie dies für die anerkannten pathogenen Arten dieser Familie zutrifft (GEDEK, 1974).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt 110 Proben von Mais, Weizen, Gerste und Hafer verschiedener Erntejahre und Provenienz wurden auf das Vorkommen gelb pigmentierter Bakterien und ihren jeweiligen Anteil an der Gesamtkeimzahl der Bakterienflora dieser Cerealien untersucht sowie zugleich die Befähigung dieser Keime zur Fett-, Casein- und Stärkespaltung und zum Wachstum auf Selektivnährböden zur Erfassung von Enterobacteriaceen einerseits und von Pseudomonas- und Aeromonasarten andererseits überprüft. Von den auf Plate-Count-Agar in gelb pigmentierten Kolonien gewachsenen Bakterien wurden, je nach der Anzahl unterschiedlicher Wuchsformen dieser Keime, ein bis fünf Vertreter isoliert, diese mit bis zu 17 verschiedenen Labortests neben ihren morphologischen Merkmalen auf ihre physiologischen Eigenschaften untersucht und soweit wie möglich nach dem neuesten Stand der Bakterien-systematik differenziert.

Im Vergleich zu Hafer und Gerste wiesen Weizen und Mais erheblich geringere Bakterienkeimgehalte auf. Bei Mais, der allgemein den geringsten Keimbesatz unter den vier geprüften Getreidearten aufwies, betrug die Differenz in den Gesamtkeimzahlen zwei bis drei Zehnerpotenzen/g Untersuchungsmaterial. Niedrigere Werte in den Keimzahlen/g wurden beim Mais vor allem nach längerer Lagerzeit und bei Herkunft aus europäischen Anbaugebieten angetroffen. Das Vorkommen von Fettspaltern war in allen Proben annähernd gleich hoch, allgemein befanden sich unter den nachgewiesenen Bakterien nur relativ wenige Vertreter mit casein- und stärkespaltenden Eigenschaften. Auf den Selektivnährböden VRB- und GSP-Agar gelangten bei der Untersuchung von Mais weitaus weniger Keime zur Entwicklung als bei der Untersuchung von Ährengetreide. Dementsprechend wurden beim Mais im Vergleich zu Ährengetreide qualitativ und quantitativ auch weniger gelb pigmentierte Bakterien festgestellt.

Insgesamt wurden aus dem Untersuchungsmaterial 206 gelb pigmentierte Bakterienstämme isoliert, bei denen es sich um grampositive Haufen-

kokken (45 Stämme) sowie um gramnegative Stäbchenbakterien, entweder mit oxidativem (28 Stämme) oder mit fermentativem Stoffwechsel (133 Stämme) handelte.

Die Stämme der Kokken und der Stäbchenbakterien mit oxidativem Stoffwechsel stammten vornehmlich vom Mais, während das Ährengetreide in erster Linie die Stäbchenbakterien mit fermentativem Stoffwechsel aufwies. Beim Mais ergaben sich Unterschiede im Vorkommen der Kokken und der Stäbchenbakterien mit oxidativem und fermentativem Stoffwechsel in Abhängigkeit vom jeweiligen Erntejahr, was auf eine Umschichtung gelb pigmentierter Keime mit voneinander abweichenden Eigenschaften während der Lagerung schließen läßt.

Bei der Differenzierung der Kokken waren 16 Stämme der Gattung *Micrococcus* und 29 Stämme der Gattung *Staphylococcus* zuzuordnen. Im einzelnen handelte es sich um folgende Arten: *Micrococcus varians* (14 St.), *M. luteus* (2 St.), *Staph. epidermidis* (24 St.), *Staph. aureus* (1 St.) und *Staphylococcus* spp. (4 St.).

Bei der Differenzierung der Stäbchenbakterien ergaben die derzeit in der Routinediagnostik eingeführten Tests keine Möglichkeit zu einer eindeutigen Zuordnung. Bei den Stämmen mit oxidativem Stoffwechsel konnte eine Zugehörigkeit zu den Gattungen *Pseudomonas* und *Alcaligenes* weitgehend ausgeschlossen werden, so daß bei diesen Stämmen (28 St.) nur noch nicht eindeutig beantwortet werden konnte, ob sie als Flavobakterien oder Xanthomonasarten zu betrachten sind. Die Stämme mit fermentativem Stoffwechsel (133 St.) erwiesen sich aufgrund der Übereinstimmung in einigen grundsätzlichen Merkmalen dagegen als ausnahmslos zur Familie der Enterobacteriaceae gehörig. Als Gattungen kommen sowohl das Genus *Enterobacter* als auch das Genus *Erwinia* in Betracht. Da derzeit noch recht unterschiedliche Auffassungen über die Gültigkeit beider Gattungen und die Abgrenzung von deren Arten gegeneinander bestehen, konnte vorerst keine endgültige Zuordnung dieser Stämme aus Getreide innerhalb der Familie der Enterobacteriaceae vorgenommen werden.

Auf die Bedeutung der Befunde im Hinblick auf die gesundheitlichen Aspekte einer Keimbelastung von Cerealien mit Enterobacteriaceen, die den bekannten pathogenen Arten nahe stehen, wird eingegangen.

5. SUMMARY

A total of 110 samples of maize, wheat, barley and oats were examined for their content of yellow pigmented bacteria and the percentage of the total bacterial population of these cereals which they constituted. The ability of these microorganisms to break down fat, casein and starch was also tested as well as their growth on selective media for identification of Enterobacteria on one hand and Pseudomonas and Aeromonas on the other. Depending on the number of different growth forms, between one and five samples of the yellow pigmented colonies which grew on Plate-Count-Agar were taken. Besides noting their morphology, they were examined with up to 17 different tests for physiological traits and were identified as far as possible according to the newest bacterial classification.

Compared with oats and barley, wheat and maize showed a much lower bacterial content. In maize, which generally had the lowest content among the analyzed grains, the difference in the total bacterial population was two to three powers of ten per gram material. Less bacteria per gram was found especially after longer storage and in samples of european origin. The incidence of lipolytic strains was almost equal in all samples. In general only few of the isolated bacteria possessed the ability to break down casein and starch. Far less bacteria isolated from maize than from the other grains developed on the selective media VRB- and GSP-Agar. Accordingly, qualitatively and quantitatively less yellow pigmented bacteria were found in maize than in wheat, barley and oats.

A total of 206 bacteria strains were isolated from the examined material and found to be Gram-positive cocci (45 strains) and Gram-negative rods with either an oxidative (28 strains) or a fermentative (133 strains) metabolism.

The strains of cocci and rods with an oxidative metabolism came mainly from maize, whereas the other cereals contained mostly rods with a fermentative metabolism. In maize differences in the incidence of cocci and rods with oxidative and fermentative metabolism were found, depending

on the year of harvest, which indicates a changeover of yellow pigmented bacteria with different traits during storage.

16 of the cocci strains belonged to the genus *Micrococcus* and 29 strains to the genus *Staphylococcus*. In particular the following species were found: *Micrococcus varians* (14 strains), *M. luteus* (2 strains), *Staph. epidermidis* (24 strains), *Staph. aureus* (1 strain) and *Staphylococcus* spp. (4 strains).

The tests commonly used in routine diagnostics today did not permit a final classification of the rods. The strains with an oxidative metabolism could for the most part be excluded from the genus *Pseudomonas* and *Alcaligenes*, so that it is merely uncertain whether these 28 strains are to be considered as *Flavobacteria* or as *Xanthomonads*. The strains with a fermentative metabolism (133 strains) could all be classified as members of the *Enterobacteriaceae* because of their consensus in some basic traits. As genus both *Enterobacter* and *Erwinia* must be considered. Because there are quite different opinions today concerning the validity of both genera and the differentiation between their species, it was not possible to classify these strains of cereal origin within the family of the *Enterobacteriaceae*.

The importance of these findings, in regard to health-aspects of grain contaminated with *Enterobacteria* related to pathogenic species, is discussed.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ANSORG, R., THOMSEN, R., STUBBE, P., 1974:
Erwinia spezies bei letaler Neugeborenensepsis.
Med. Microbiol. Immunol., 159, 161 - 170.
- BAIRD-PARKER, A. C., 1974:
Micrococcaceae
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 478 - 489.
- BEAN, P. G., EVERTON, J. R., 1969:
Observations on the Taxonomy of Chromogenic Bacteria Iso-
lated from Cannery Environments.
J. appl. Bact., 32, 51 - 59.
- BECKER, M., NEHRING, K., 1965:
Handbuch der Futtermittel, Bd. II.
Verlag Paul Parey, Hamburg - Berlin, 118 - 170.
- BEIJERINCK, M. W., 1888:
Die Bakterien der Papilionaceen-Knöllchen.
Bot. Ztg., 46, 742 - 750.
- BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1923:
By: BERGEY, D. H., HARRISON, F. C., BREED, R. S.,
HAMMER, B. W., HUNTOON, F. W., 1st Ed., The Wil-
liams & Wilkins Company, Baltimore.
- BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1957:
By: BREED, R. S., MURRAY, E. G. D., SMITH, N. R.,
7th Ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974:
By: BUCHANAN, R. E., GIBBONS, N. E., 8th Ed., The
Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- BOTTONE, E., SCHNEIERSON, S. S., 1972:
Erwinia spezies: An Emerging Human Pathogen.
Am. J. clin. Path., 57, 400 - 405.
- BUSSE, M., 1970:
Eine neue Methode zur Untergliederung eng verwandter
Bakteriengruppen am Beispiel der Enterobakterien.
2. Symp. Techn. Mikrobiol., Berlin, 243.

- BYROM, N. A., 1971:
The Adansonian Taxonomy of Some Cannery Flavobacteria.
J. appl. Bact., 34, 339 - 346.
- CANALE-PAROLA, E., 1974 a:
Sarcina
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 527 - 528.
- CANALE-PAROLA, E., 1974 b:
Spirochaeta
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 168 - 171.
- CHRISOPE, G. L., FOX, C. W., MARSHALL, R. T., 1976:
Lecithin-Agar for Detection of Microbial Phospholipases.
Appl. Environ. Microbiol., 31, 784 - 786.
- COWAN, S. T., 1974:
Enterobacteriaceae
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 290 - 293.
- DAVIS, G. H. G., PARK, R. W. A., 1962:
A Taxonomic Study of Certain Bacteria, Currently Classi-
fied as *Vibrio* species.
J. gen. Microbiol., 27, 101.
- DEIBEL, R. H., SEELEY, H. W., 1974:
Streptococcaceae
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 490.
- DIJCK, P. van, VOORDE, H. van de, 1976:
Sensitivity of Environmental Microorganisms to Anti-
microbial Agents.
Appl. Environ. Microbiol., 31, 332 - 336.
- DOREY, M. J., 1959:
Some Properties of a Pectolytic Soil Flavobacterium.
J. gen. Microbiol., 20, 91.
- DOUDOROFF, M., PALLERONI, N. J., 1974:
Pseudomonas
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 217 - 243.
- DRESEL, E. G., STICKL, O., 1928:
Über reversible Mutationsformen der Typhusbazillen
beim Menschen.
Dt. med. Wschr., 54, 517 - 525.

DÜGGELI, M., 1904:

Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen.

Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II, 12, 602 - 614;
13, 56 - 63; 198 - 207.

DUTKIEWICZ, J., 1976:

Studies on Endotoxins of *Erwinia herbicola* and their Biological Activity.

Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I, Orig. A, 236, 487 - 508.

DYE, D. W., 1964:

The Taxonomic Position of *Xanthomonas trifolii* (HUSS, 1907, JAMES, 1955).

N. Z. Jl. Sci., 7, 261 - 269.

DYE, D. W., LELLIOTT, R. A., 1974:

Xanthomonas

In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 243 - 249.

ECKERSKORN, W., 1976:

Über Kontaminationen von Futtermitteln und entsprechende Regelungen aus ernährungspolitischer Sicht.

Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I, Orig. B, 163, 189 - 202.

EDMONDS, P., COONEY, J. J., 1967:

Identification of Microorganisms Isolated from Jet Fuel System.

Appl. Microbiol., 15, 411 - 416.

EWING, W. H., FIFE, M. A., 1972:

Enterobacter agglomerans (BEIJERINCK) comb. nov.
(the *Herbicola* - *Lathyri* Bacteria).

Int. J. system. Bact., 22, 4 - 11.

GEDEK, B., 1973:

Futtermittelverderb durch Bakterien und Pilze und seine nachteiligen Folgen.

Übers. Tierernährg., 1, 45 - 56

GEDEK, B., 1974:

Der mikrobiologische Zustand von Futtermitteln aus der Sicht der Veterinärhygiene.

In: Unerwünschte Stoffe in Futtermitteln und mögliche Rückstände in Lebensmitteln. Hrsg. Fachverband der Futtermittelindustrie e. V., Hamburg.

GEDEK, W., 1972:

Die Staphylokokken-Mastitis bei Haustieren.

VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

- GERINGER, M., 1975:
Untersuchungen zur Charakterisierung, Einteilung und
milchhygienischen Bewertung der in Milch vorkommen-
den Flavobakterien.
Vet. Med. Diss., Justus Liebig-Universität Gießen.
- GOODFELLOW, M., AUSTIN, B., DICKINSON, C. H., 1976:
Numerical Taxonomy of Some Yellow-Pigmented Bacteria,
Isolated from Plants.
J. gen. Microbiol., 97, 219 - 233.
- GRAEVENITZ, A. von, 1971:
Erwinia Infection from Environmental Sources.
J. Am. med. Ass., 216, 1485.
- GRAHAM, D. C., HODGKISS, W., 1967:
Identity of Gram Negative, Yellow Pigmented, Fermenta-
tive Bacteria Isolated from Plants and Animals.
J. appl. Bact., 30, 175 - 189.
- HALLMANN, L., BURKHARDT, F., 1974:
Klinische Mikrobiologie.
4. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- HAMANN, R., WEBER, H., 1978:
Ein Beitrag zum quantitativen und qualitativen Nachweis
von Enterobacteriaceae in Speiseeis. - Vergleichende Un-
tersuchungen verschiedener Testsysteme.
Archiv Lebensmittelhyg., 29, 5 - 16.
- HAYES, P. R., 1963:
Studies on Marine Flavobacteria.
J. gen. Microbiol., 30, 1 - 19.
- HAYES, P. R., 1977:
A Taxonomic Study of Flavobacteria and Related Gram
Negative Yellow Pigmented Rods.
J. appl. Bact., 43, 345 - 367.
- HAYWARD, A. C., 1966:
Methods of Identification in the Genus Xanthomonas.
In: GIBBS, B. M., SKINNER, F. A., Identification Me-
thods for Microbiologists, Part A, Academic Press, Lon-
don - New York.

- HENDRIE, M. S., MITCHELL, T. G., SHEWAN, J. M., 1968:
The Identification of Yellow-Pigmented Rods.
In: GIBBS, B. M., SHAPTON, D. A., Identification Methods for Microbiologists, Part B, Academic Press, London - New York.
- HOLDING, A. J., SHEWAN, J. M., 1974:
Alcaligenes
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 273 - 275.
- HUGH, R., LEIFSON, E., 1953:
The Taxonomic Significance of Fermentative versus Oxidative Metabolism of Carbohydrates by Various Gram-Negative Bacteria.
J. Bact., 66, 24 - 26.
- HUSS, H., 1907:
Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabilisierende Bakterien. *Bacillus esterificans* Maassen und *Pseudomonas Trifolii* nov. spec.
Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II, 19, 50 - 70; 149 - 160.
- ISENBERG, H. D., SMITH, P. B., BALOWS, A., PAINTER, B. G., RHODEN, D. L., TOMFOHRDE, K., 1974:
r/b Expanders: Their Use in Identifying Routinely and Unusually Reacting Members of Enterobacteriaceae.
Appl. Microbiol., 27, 575 - 583.
- JAMES, N., 1955:
Yellow Chromogenic Bacteria. I Quantitative Studies.
II Determinative Studies.
Can. J. Microbiol., 1, 271 - 274; 479 - 485.
- JEMMALI, M., 1968:
Identification des bactéries jaunes isolées des céréales et des graines oléagineuses.
Inds aliment. agric., 85, 263 - 269.
- KLOOS, W. E., ZIMMERMAN, R. J., SMITH, R. F., 1976:
Preliminary Studies on the Characterization and Distribution of Staphylococcus and Micrococcus Species on Animal Skin.
Appl. Microbiol., 31, 53 - 59.
- LEADBETTER, E. R., 1974:
Cytophagaceae
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 99 - 107.

- LEE, J. S., HARRISON, J. M., 1968:
Microbial Flora of Pacific Hake (*Merluccius productus*).
Appl. Microbiol., 16, 1937 - 1938.
- LELLIOTT, R. A., 1974:
Erwinia
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 332 - 339.
- LUND, B. M., 1969:
Properties of Some Pectolytic, Yellow Pigmented, Gram
Negative Bacteria Isolated from Fresh Cauliflowers.
J. appl. Bact., 32, 60 - 67.
- LUND, B. M., 1971:
Bacterial Spoilage of Vegetables and Certain Fruits.
J. appl. Bact., 34, 9.
- MACK, E., 1936:
Untersuchungen über *Bacterium herbicola*.
Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II, 95, 218 - 261.
- McMEEKIN, T. A., 1977:
Ultraviolet Light Sensitivity as an Aid for the Identification
of Gram-Negative, Yellow-Pigmented Rods.
J. gen. Microbiol., 103, 149 - 151.
- McMEEKIN, T. A., PATTERSON, J. T., MURRAY, J. G., 1971:
An Initial Approach to the Taxonomy of Some Gram-Negative,
Yellow-Pigmented Rods.
J. appl. Bact. 34, 699 - 716.
- MEYERS, B. R., BOTTONE, E., HIRSCHMAN, S. Z., SCHNEIERSON,
S. S., 1972:
Infections Caused by Microorganisms of the Genus *Erwinia*.
Ann. intern. Med., 76, 9 - 14.
- MORRISON, R., CUMMINS, C. S., LELLIOTT, R. A., KEDDIE, R. M.,
1974:
Coryneform Group of Bacteria
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 599 - 632.
- MURASCHI, T. F., FRIEND, M., BOLLES, D. 1965:
Erwinia-like Microorganisms Isolated from Animal and
Human Hosts.
Appl. Microbiol., 13, 128 - 131.

ØRSKOV, F., 1974:

Escherichia

In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 293 - 296.

PARK, R. W. A., 1962:

A Study of Certain Heterotrophic Polarly Flagellate Water
Bacteria; Aeromonas, Pseudomonas and Comomonas.
J. gen. Microbiol., 27, 121.

REICHARDT, W., 1974:

Zur Ökophysiologie einiger Gewässerbakterien aus der
Flavobacterium - Cytophaga - Gruppe.
Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I, Orig. A 227, 85 - 93.

REYN, A., 1974:

Neisseriaceae

In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 427 - 432.

ROGOSA, M., 1974:

Lactobacillus

In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 576.

SAKAZAKI, R., 1974:

Enterobacter

In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 324 - 325.

SCHMIDT, H. L., 1965:

Über Keimbesatz und Keimverunreinigungen von Handels-
futtermitteln.
Getreide und Mehl, 15, 28 - 34.

SCHMIDT, H. L., 1968:

Zur Mikrobiologie der Handelsfuttermittel.
Landwirtschaftl. Forsch., 21, 146 - 163.

SCHMIDT, H. L., 1974:

Über das Mikroorganismenvorkommen und die Möglichkei-
ten zur Steuerung des Keimbesatzes bei Futtermitteln.
In: Unerwünschte Stoffe in Futtermitteln und mögliche Rück-
stände in Lebensmitteln. Hrsg. Fachverband der Futtermit-
telindustrie e. V., Hamburg.

SCHMIDT-LORENZ, W., 1964:

Methoden zur quantitativen Isolierung und Bestimmung von
in Lebensmitteln vorkommenden Bakterien.
Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I, Suppl. 1, 270 .

SCHUBERT, R. H. W., 1974:

Aeromonas
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 345 - 348.

SEDLAK, J., SLAJSOWA, M., TOMASOFFOWA, A., 1961:

Zur biochemischen Differenzierung von Enterobacteriaceae.
Zentbl. ges. Hyg., 7, 774.

SHEWAN, J. M., HOBBS, G., HODGKISS, W., 1960:

A Determinative Scheme for the Identification of Certain
Genera of Gram-Negative Bacteria with Special Reference
to the Pseudomonadaceae.
J. appl. Bact. 23, 379.

SHEWAN, J. M., VERON, M., 1974:

Vibrio
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 340 - 345.

SLOTNICK, I. J., TULMAN, L., 1967:

A Human Infection Caused by an Erwinia species.
Am. J. Med. 43, 147 -150.

SNIESZKO, S. F., 1957:

Aeromonas
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed.,
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 189 - 193.

SPICHER, G., 1956:

Vergleichende Untersuchungen über die Mikroflora des
Getreides.
Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II, Orig. 109, 589 - 610.

SPICHER, G., 1958:

Einleitende Untersuchungen über die Zusammensetzung
der Mikroflora des Getreides.
Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II, 111, 238 - 248.

SPICHER, G., 1963:

Neue Gesichtspunkte bei der Klassifizierung der Bakterien-
flora des Getreides und der Getreideprodukte.
Getreide und Mehl, 13, 109 - 116.

- SPICHER, G., 1966:
Die systematische Stellung der Gelbstämme unter besonderer Berücksichtigung ihrer biochemischen Eigenschaften. Getreide und Mehl, 16, 117 - 121.
- SPICHER, G., 1969:
Vergleichende Untersuchungen über die im Verlauf der Entwicklung der Getreidepflanze auftretenden "Gelbkeime". Getreide und Mehl, 19, 65 - 68.
- SPICHER, G., 1970:
Untersuchungen über das Auftreten coliformer Bakterien und fäkaler Streptokokken auf Getreide. Getreide und Mehl, 20, 61 - 63.
- SPICHER, G., 1973:
Die Mikrobiologie des Getreides und der Getreideprodukte. Die Bodenkultur, 24, 13 - 31.
- STARR, M. P., MANDEL, M., 1969:
DNABase Composition and Taxonomy of Phytopathogenic and Other Enterobacteria. J. gen. Microbiol., 56, 113 - 123.
- STARR, M. P., STEPHENS, W. L., 1964:
Pigmentation and Taxonomy of the Genus Xanthomonas. J. Bact., 87, 293 - 302.
- THALMANN, A., 1971:
Veränderungen der Mikroflora von Futtermitteln bei der Lagerung. Landwirtschaftl. Forsch., 26, II. Sonderheft, 58 - 62.
- WECHSLER, A., BOTTONNE, E., LASSER, R., KORENMAN, G., 1971:
Brain Abscess Caused by an Erwinia species. Am. J. Med., 51, 680 - 684.
- WEEKS, O. B., 1974:
Flavobacterium
In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 357 - 364.
- WHITE, J. N., STARR, M. P., 1971:
Glucose Fermentation End Products of Erwinia spp. and Other Enterobacteria. J. appl. Bact., 34, 459 - 475.
- WINKLER, W., 1899:
Untersuchungen über das Wesen der Bakterien und deren Einordnung im Pilzsystem. Zbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II, 5, 569 - 579; 617 - 630.

Frau Prof. Dr. B. Gedek möchte ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung der Arbeit und die mir jederzeit gewährte Aussprache ganz herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr danke ich besonders für die mir bereitwillig gewährte Arbeitsmöglichkeit und sein stetes Interesse an meiner Arbeit.

LEBENS LAUF

=====

Am 9. Juli 1952 wurde ich, Anita Elisabeth Götz, geb. Jekel, als Tochter des Maschinenschlossers Heinrich Jekel und seiner Ehefrau Ruth, geb. Schehl, in Pirmasens/Pfalz geboren.

Nach vierjähriger Volksschulzeit und neunjähriger Gymnasialzeit legte ich am 18. Mai 1971 am Staatlichen Leibniz-Gymnasium Pirmasens das Abitur ab.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Das Staatsexamen legte ich im Herbst 1976 ab und erhielt die Approbation als Tierarzt mit Wirkung vom 7. Dezember 1976. Die vorliegende Arbeit begann ich im Dezember 1976 am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin im Fachbereich Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Seit 16. Juni 1978 bin ich mit dem Arzt Rupert Götz aus München verheiratet.

